

LICHT- UND ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE
UNTERSUCHUNGEN
ZUR UNGESCHLECHTLICHEN UND
GESCHLECHTLICHEN VERMEHRUNG VON
CYSTOISOSPORA FELIS
IM DÜNNDARM EXPERIMENTELL INFIZIERTER
KATZEN

Winfried Schönweitz

1981



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Vergleichende Tropenmedizin
und Parasitologie der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Vorstand: Professor Dr. Dr. h.c. J. Boch

LICHT- UND ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN
ZUR UNGESCHLECHTLICHEN UND GESCHLECHTLICHEN VERMEH-
RUNG VON CYSTOISOSPORA FELIS IM DÜNNDARM EXPERIMEN-
TELL INFIZIERTER KATZEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Winfried Schönweitz
aus
Immelstetten

München 1981

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan	: Prof. Dr. J. von Sandersleben
Referent	: Prof. Dr. Dr.h.c. J. Boch
Korreferent	: Prof. Dr. E. Dahme

Tag der Promotion: 27. Februar 1981



Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Morphologie und Biologie von <i>Cystoisospora felis</i> (anhand der Literatur)	2
III. Eigene Untersuchungen	7
A. Material und Methodik	7
B. Ergebnisse	10
1. Lichtmikroskopische Untersuchungen	10
2. Elektronenmikroskopische Untersuchungen ...	15
a) Ungeschlechtliche Vermehrung	15
b) Geschlechtliche Vermehrung	24
IV. Besprechung der Ergebnisse	39
V. Zusammenfassung	46
Summary	47
VI. Literaturverzeichnis	48
Lebenslauf	

I. Einleitung

Forschungen der letzten Jahre auf dem Gebiet der Kokzidien zeigten, daß diese Parasiten eine Vielzahl von Formen der Vermehrung und der Differenzierung bilden können. Während viele Arbeiten über die Morphologie der Gattungen *Sarcocystis*, *Toxoplasma* und *Eimeria* vorliegen, ist die Ultrastruktur der Entwicklungsstadien der Gattung *Isospora* nur wenig untersucht. Es war deshalb das Ziel dieser Arbeit, morphologische Einzelheiten der ungeschlechtlichen und geschlechtlichen Entwicklungsstadien von *Cystoisospora felis* im Darm experimentell infizierter Katzen darzustellen.

II. Morphologie und Biologie von Cystoisospora felis in der Katze (anhand der Literatur)

FINCK (1854) hat als erster Kokzidienstadien im Darm von Hund, Katze und Iltis (*Mustela putorius*) beobachtet. Ging man ursprünglich von nur einer Kokzidienart für alle Tiere aus, so unterschied WENYON (1923) erstmals 3 Arten bei Hund und Katze, die sich durch die Größe ihrer Oozysten unterscheiden, nämlich *Isospora bigemina* (*Coccidium bigeminum*, STILES? 1891), *Isospora rivolta* (GRASSI, 1879) und *Isospora felis* (WENYON, 1923).

SWELLENGREBEL (1914) berichtete unter dem Namen *Isospora bigemina* ebenfalls über die Entwicklung dieser Kokzidienart und beschrieb Einzelheiten der Schizogonie im Epithel des Dünndarms sowie die Bildung von Mikrogamonten und Oozysten. ANDREWS (1926) untersuchte die klinischen Erscheinungen bei 4 Wochen alten Kätzchen, die er mit 100 000 Oozysten infiziert hatt.

HITCHCOCK (1955) befaßte sich erneut mit dem Lebenszyklus von *Isospora felis* und beschrieb 2 Schizogoniestadien. Die reifen Schizonten der 1. Generation hatten eine Größe von $10,5 - 13,5 \times 6,0 - 8,0 \mu\text{m}$, die Merozoiten einen Durchmesser von $1 - 2 \mu\text{m}$. Ein Schizont enthielt 40 - 60 Merozoiten. Die reifen Schizonten der 2. Generation waren $17 - 34,5 \times 9 - 22 \mu\text{m}$ groß und enthielten 10 - 24 Merozoiten, die $4,5 \times 10,5 \mu\text{m}$ groß und an den Enden abgerundet waren. Die reifen Mikrogamonten waren $30 \times 22 \mu\text{m}$, die Makrogamonten $27 \times 25,5 \mu\text{m}$, die Präpatenz mit 8 - 9 Tagen angegeben.

LICKFELD (1959) beobachtete ebenfalls den Lebenszyklus von *Isospora felis*. Er erkannte 2 Schizogonien, allerdings dazwischengeschaltet eine als "cyst" bezeichnete Form. Er sah 24 Stunden p. i. $12\mu\text{m}$ lange Sporozoiten in Darmepithelzellen, die sich 36 Stunden p. i. auf $18 - 20\mu\text{m}$ strecken und 72 Stunden p. i. mit der Kernteilung beginnen. Es entstehen $20 - 38\mu\text{m}$ große Schizonten mit durchschnittlich 16 Merozoiten mit einer Länge von $16 - 18,5\mu\text{m}$ und einer Dicke von $5 - 8\mu\text{m}$. Gleichzeitig fand er spindelförmige Gebilde ($11 \times 4,5\mu\text{m}$) in den Epithelzellen, von denen jede Spindel bis zu 6 Organismen bildeten, die in ein und derselben "cyst" eingeschlossen blieben. Diese Schizonten waren zuerst einkernig und wurden später vielkernig ($16 \times 20,2\mu\text{m}$). Aus ihnen wurden $30 - 100$ Merozoiten ($7,5 \times 2,5\mu\text{m}$) der 2. Generation in die gemeinsame Mutter-"cyst" freigesetzt. Er bezeichnet die Merozoiten der 1. Generation als Makro-, die jungen der 2. Generation als Mikromerozoiten. Die Mikrogamonten hatten einen Durchmesser von $60 - 70\mu\text{m}$ und enthielten etwa 1000 Mikrogameten ($3,6 \times 1,0\mu\text{m}$). Die Makrogamogonie entspricht der Beschreibung von Hitchcock (1955).

Schließlich befaßte sich SHAH (1971) mit der lichtmikroskopischen Beschreibung des Entwicklungszyklus von *Cystoisospora felis*. Er sah 3 Schizogoniestadien. Der Schizont der 1. Generation ($11 - 30 \times 10 - 23\mu\text{m}$) enthielt $2 - 16$, die 2. Schizogonie $2 - 10$ spindelförmige Merozoiten ($13 \times 4\mu\text{m}$). Ohne die Wirtszelle zu verlassen, werden die Merozoiten der 2. Generation vielkernig und entwickeln sich zum Schizonten ($144 - 216$ Stunden p. i.) der 3. Generation ($14 \times 5\mu\text{m}$). Die daraus hervorgehenden Merozoiten sind sehr klein ($7 \times 2\mu\text{m}$) und stellen die Vorläufer der Gamonten dar. Ein Geschlechtsdimorphismus wurde von ihm nicht für möglich gehalten. Während der geschlechtlichen Entwicklung sah er doppelt begeißelte Mikrogameten im Phasenkontrastmikroskop.

Nach WENYON (1923) und TOMIMURA (1957) werden die eiförmigen, nur an einem Pol leicht zugespitzten Oozysten ab dem 6. Tag p. i. ausgeschieden; sie sporulieren in 48 Stunden in der

Außenwelt (SHAH, 1970). Sie sind $35 - 48 \times 26 - 37 \mu\text{m}$ groß, werden von einer glatten, hellgelben bis hellbraunen, einschichtigen, $1,3 \mu\text{m}$ dicken Hülle umgeben und haben weder Mikropyle und Oozystenrestkörper noch Polgranula. Die $20 - 26 \times 17 - 22 \mu\text{m}$ großen Sporozysten sind elliptisch mit einer $0,4 \mu\text{m}$ dicken Wand. Ein Stidakörper fehlt, der Restkörper ist granuliert. Die Sporozoiten sind bananenförmig, an einem Ende etwas zugespitzt und $12 - 16 \times 3 - 4 \mu\text{m}$ groß. FRENKEL und DUBEY (1972) sowie DUBEY (1975) konnten neben der direkten Entwicklung des Parasiten auch einen fakultativ zweiwirtigen Zyklus mit extraintestinalen Stadien in Nagetieren feststellen. Daher stammt die heute gebräuchliche Gattungsbezeichnung Cystoisospora. Die Autoren verfütterten Lymphknoten, Lunge, Milz und Leber von infizierten Mäusen, Ratten und Hamstern an Katzen, welche dann nach einer verkürzten Präpatenz von 5 Tagen Oozysten ausschieden. DUBEY (1975) konnte auch Hunde als Zwischenwirte von Cystoisospora felis ermitteln.

DUBEY und FRENKEL (1972) beobachteten extraintestinale Stadien von Cystoisospora felis nicht nur in Nagetieren, sondern auch in Mesenteriallymphknoten, Leber, Milz, Lunge, Gehirn und Muskulatur der Katze selbst. Sie sind noch 3 Monate p. i. zu finden, wenn Oozysten längst nicht mehr ausgeschieden werden. GEBELHOFF (1978) fand derartige "Dormozoiten" auch beim Rind.

Diese extraintestinalen Stadien färben sich mit Hämalaun-Eosin oder Giemsa nur schwer an. Die Frage ihrer eventuellen Vermehrung im Zwischenwirt ist noch nicht endgültig geklärt, auch wenn FRENKEL und DUBEY (1972) sowie FRENKEL (1974) eine Zweiteilung und eine Zystenbildung annehmen.

FAYER und THOMPSON (1974) untersuchten die Entwicklung von C. felis in Zellkulturen. Sie beschrieben und fanden je zwei größere und kleinere Tochterzellen in einer Mutterzelle. Gleichzeitig beobachteten sie Mitoseformen und Schizonten mit 3 und 4 Merozoiten.

Bei *Isospora rivolta* der Katze unterscheidet DUBEY (1979) 3 unterschiedliche Schizontentypen. Schizonten vom Typ I werden 12 - 48 Stunden p. i. beobachtet. Sie sind $8,5 \times 11 \mu\text{m}$ groß, enthalten 2 - 8 Merozoiten und teilen sich mitotisch oder durch Endodyogenie. Schizonten vom Typ II sind vielkernige Schizonten (Meronten), wovon mehrere in einer parasitophoren Vakuole liegen. Sie werden 48 - 172 Stunden p. i. beobachtet. Einzelne vielkernige Schizonten sind $7 - 13 \times 3 - 5 \mu\text{m}$ groß und enthalten 2 - 30 schlanke Merozoiten. Schizonten vom Typ III treten 72 - 192 Stunden p. i. auf.

Die Gamogonie erfolgt 72 - 96 Stunden p. i.. Reife Mikrogamonten enthalten bis zu 70 Mikrogameten, Makrogamonten messen $18 \times 16 \mu\text{m}$.

PELSTER (1973) untersuchte die Feinstruktur der Makrogameten von *Isospora felis* und *Isospora rivolta*. "Die Wand der parasitophoren Vakuole wird I. felis aus 4 osmiophilen Schichten gebildet, so daß der Eindruck von 2 dicht untereinander liegenden Elementarmembranen entsteht". Diese Begrenzungsmembran der parasitophoren Vakuole zeigt tiefe, fingerförmige Ausstülpungen auf das Wirtsgewebe, in denen runde Körper abgelagert sind. Die Wand der Makrogameten baut sich aus einer äußeren "unit membrane" auf, unter der eine zweite dreischichtige Membran liegt.

Hüllbildungskörper vom Typ I sind von einer Membran begrenzt und enthalten osmiophiles, teilweise scholliges Material. Sie haben einen Durchmesser von $0,5 \mu\text{m}$. Hüllbildungskörper vom Typ II sind in Zytoplasmalakunen gelagert. Ein elektronendichtes Zentrum wird von einer schwach kontrastierten Kapsel umgeben. Ihr Durchmesser beträgt $1,2 \mu\text{m}$.

FERGUSON und Mitarbeiter (1980) geben eine detaillierte Beschreibung der Makrogamogonie und Mikrogamogonie von *Cystoisospora felis*. Der frühe Makrogamont ist durch seine ellipthische Form und seinen großen Zellkern mit dem deutlichen Nukleolus gekennzeichnet. Während seiner Entwicklung bleibt der Makrogamont ständig von einer Hüllmembran begrenzt.

Bereits zu einem frühen Zeitpunkt erfolgt die Ausbildung von Hüllbildungskörpern vom Typ I und Typ II. Beim Typ I scheint das grobe endoplasmatische Reticulum und der Golgi-Apparat miteinbezogen zu sein, während sich die Hüllbildungskörper vom Typ II in Lakunen ("cisternae") des r.ER entwickeln. Der Gamontenkern stülpt sogenannte "multimembraneous vacuoles" aus, wie sie auch bei der Gattung *Eimeria* beobachtet wurden. Das Zytoplasma der Makrogameten enthält zahlreiche Lipidkügelchen und Polysaccharidgranula, die als Reservestoffe gedeutet werden.

Die Mikrogamonten liegen ebenfalls in einer parasitophoren Vakuole der Dünndarmepithelzelle. Der Begrenzungswall der Vakuole ist 30 nm dick, besteht aus 4 elektronendichten und 3 elektronenlichten Strängen und bildet viele Ausstülpungen in das Wirtsgewebe. Darin liegen viele 60 nm große "patches" eingeschlossen. Die Mikrogamonten werden von einer Pellikula umschlossen, die sich ins Zytoplasma einstülpen. Die Mikrogamogonie beginnt mit einer Vergrößerung des Zytoplasmas. Der Zellkern teilt sich in viele Nuklei. Diese siedeln sich in der Nähe der Pellikula an und werden von dort ausgestülpt. Zwei Basalkörper, ein Nukleus und ein Mitochondrium sind in jeder dieser Exvaginationen sichtbar. Hieraus entwickeln sich die reifen Mikrogameten mit ihrem länglichen Kern, dem ein Mitochondrium aufgesetzt ist. An ihrem Vorderende sind ein Perforatorium und zwei Basalkörper angebracht, an denen zwei Geißeln inserieren.

HILALI, GHAFFAR und SCHOLTYSECK (1979) untersuchten die Ultrastruktur von *Isospora canis*. Sie stellten fest, daß sich die Merozoiten durch Endodyogenie vermehren.

III. Eigene Untersuchungen

A. Material und Methodik

Das Infektionsmaterial (*Cystoisospora felis* - Oozysten) stammte aus dem Kot einer natürlich infizierten Katze. Die Oocysten wurden mit der NaCl - Flotationsmethode angereichert und mehrmals in Aqua dest. gewaschen. Sie sporulierten bei 25 C Raumtemperatur in Petrischalen unter Zusatz von 20 ml Wasser und Tageslichtbestrahlung binnen 48 Stunden. Die so sporulierten Oocysten lagerten bis zu ihrer Verwendung für gezielte Infektionen unter Zusatz von 2,5% Kaliumdichromatlösung bei Kühlschranktemperatur. Als Versuchstiere dienten 8 Katzen beiderlei Geschlechts aus irstitutseigener Zucht im Alter von 5 bis 7 Wochen. Die Haltung erfolgte in gereinigten und abgeflamten Metallkäfigen mit getrennten Kotauffangplatten. Die Nahrung bestand aus handelsüblichem Dosenfutter und Wasser ad libitum. Die Tiere wurden vor der Infektion 14 Tage lang täglich auf eventuelle Ausscheidung von Oozysten überprüft und nur bei gesicherter Kokzidienfreiheit zum Versuch verwendet.

Als Infektionsdosis wählten wir ca 100 000 sporulierte Oozysten pro Katze, die in suspendierter Form den Kätzchen oral verabreicht wurden. Bei allen Tieren trat Inappetenz auf, aber schon 1 bis 2 Tage p. i. wurde das Futter wieder bereitwillig aufgenommen. Am 3. Tag p.i. stellte sich leichter Durchfall ein. Ab dem 6. Tag p. i. traten unsporulierte Oozysten im Kot auf.

Zur Entnahme des vorderen Darmabschnittes (Duodenum bis Ileum) erhielt jede Katze eine Überdosis Pentobarbital-Natrium. Die Katzen wurden 72, 96, 120, 144, 168, 180 und 210 Stunden p. i. eingeschläfert. Eine Katze diente, insbesondere auch für die Histologie, als Negativkontrolle.

Für die Lichtmikroskopie fertigte ich Mukosaabstriche an, die nach Giemsa gefärbt wurden und der Voruntersuchung dienten; gleichzeitig überprüften wir Nativpräparate aus denselben Darmabschnitten.

Für die elektronenmikroskopische Untersuchung wurde Mukosamaterial aus den entsprechenden Darmabschnitten mit 2,5% -igem Glutaraldehyd in 0,1M Cacodylatpuffer (pH 7,2) bei 4 C für 4 Stunden fixiert. Anschließend wurde das Material auf etwa 1 x 2 mm Kantlänge zerkleinert, fünfmal hintereinander in Cacodylatpuffer gewaschen und schließlich in 1% -igem Osmiumteroxid nachfixiert.

Nach einem erneuten Waschen entwässerte ich das Untersuchungsmaterial in einer aufsteigenden Alkoholreihe, zuerst in 50 %igem Alkohol für 15 Minuten und bei 4 C, anschließend in 70 %igem Äthanol für 30 Minuten bei gleicher Temperatur. Gleichzeitig wurde mit 1 %igem Uranylacetat zwischenkontrastiert. Anschließend wurde in 90 %igem Äthanol für 30 Minuten bei 4 C dehydriert. Die Entwässerung in absolutem Alkohol erfolgte zweimal im Abstand von 30 Minuten und bei Raumtemperatur. Propylenoxid wurde zweimal für 15 Minuten als Intermedium verwendet.

Als Einbettungsmittel diente Durcupan ACM (von FLUCA). Die Proben wurden in Gelatine kapseln verbracht und polymerisiert dort in 48 Stunden im Brutschrank bei 60 C.

1 - 2/ μ m starke Semidünnschnitte, die mit Methylenblau und Safranin O gefärbt wurden, fertigte ich auf einem Porter - Blum Mikrotom an. Ultradünnschnitte (ca 50 nm) wurden auf einem Ultratom III (LKB) hergestellt. Für den Schneidevorgang wurden sowohl Glasmesser als auch Diamantmesser verwendet. Die Semidünnschnitte untersuchte ich im Lichtmikroskop auf parasitäre Stadien.

Die Ultradünnschnitte wurden auf formvorbefilmte Kupfernetzchen übertragen und anschließend mit Uranylacetat und Bleicitrat (REYNOLDS, 1963) nachkontrastiert. Die elektronenmikroskopische Auswertung erfolgte an einem ELMISKOP 101 von SIEMENS, die lichtmikroskopische an einem LEITZ - Photomikroskop.

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

BL	Blepharoplast
C	Conoid
CC	Kernspindel (centrocone)
CH	Chromatin
ER	Endoplasmatisches Reticulum
F _{1,2,3}	Geißeln 1, 2 und 3
HMI	Wirtsmitochondrium
HN	Wirtszellkern
IM	Innere Membran
KR	Kristalline Substanz
L	Lipid
LP	Lamina propria
MAG	Makrogamont
MB	Maturationskörper
MG	Mikrogamet
MI	Mitochondrium
MIG	Mikrogamont
MN	Mikronemen
MP	Mikropore
MV	Mikrovilli
MZ	Nutterzelle
N	Kern
OM	Außere Membran
PE	Pellikula
PF	Perforatorium
PG	Polysaccharidgrana
PP	Hinterer Pol
PR	Polring
PV	Parasitophore Vakuole
RH	Rhoptrien
RN	Restkern
S	Säckchen
TZ	Tochterzelle
V	Vesikel
WFB I, II	Hüllbildungskörper vom Typ I und Typ II
WN	Wirtszellkern
WZ	Wirtszelle
ZYG	Zygote

Die auf den Bildern verwendeten Meßbalken entsprechen, falls nicht gesondert aufgeführt, 1 μ m.

8. Ergebnisse

1. Lichtmikroskopische Untersuchungen

Aufgrund von Kotuntersuchungen ließ sich für *Cystoisospora felis* eine Präpatenz von 6 bis 7 Tagen ermitteln, die Patenz betrug 10 - 15 Tage. 210 Stunden p. i. wurde ein Ausscheidungsmaximum an Oozysten festgestellt; diese sporulieren in der Außenwelt bei Zimmertemperatur und einer Luftfeuchtigkeit über 70 % (feuchte Kammer) innerhalb von 48 Stunden.

Die Entwicklungsstadien von *Cystoisospora felis* wurden vorzugsweise im Ileum, zu einem geringeren Teil im Jejunum gefunden. Sie liegen immer in Darmepithelzellen zwischen Wirtszellkern und Mikrovilli (Abb. 1).

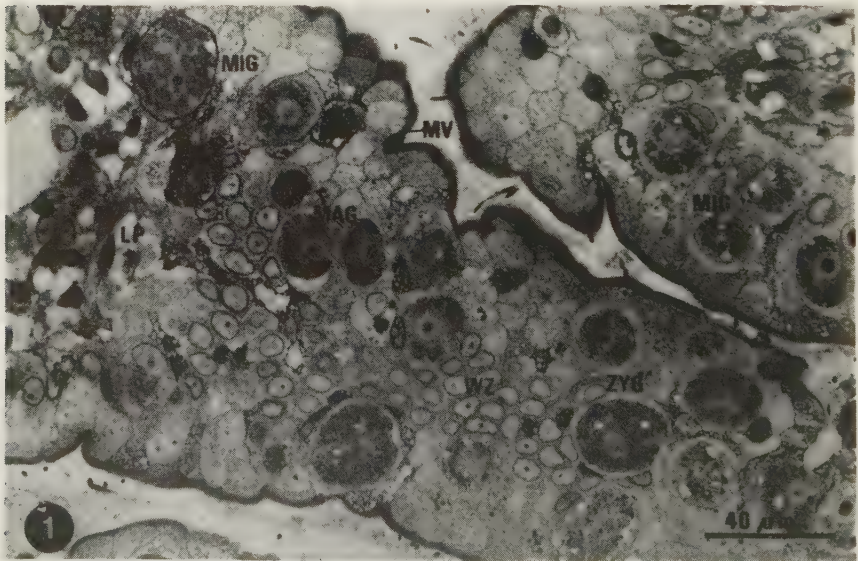


Abb. 1: Übersicht von *C. felis* anhand eines Dünndarmvillus im Semidünnschnitt (Vergr. 1600 fach, Lichtmikroskop)
Typische Lage verschiedener Stadien in den Epithelzellen des Dünndarms

Die parasitierte Epithelzelle geht zugrunde. Der Zellkern bleibt in der ungeschlechtlichen Vermehrungsphase erhalten, wird aber während der geschlechtlichen Vermehrung aufgelöst. Der Parasit befällt vornehmlich die Spitzen der Darmzotten, die dann wie zerfressen aussehen. In Becherzellen, Gefäßen, Lieberkühn'schen Krypten und in der Lamina propria fanden sich keine Parasiten.

Während die Gamonten in einer von der Wirtszelle gebildeten parasitophoren Vakuole liegen, bleiben die Schizonten immer in unmittelbarem Kontakt zu allen Zellbestandteilen der befallenen Epithelzelle. Zwar bilden die Schizontenmerozoiten durch Kompression der Wirtszellorganellen einen deutlichen Wall um sich herum, eine parasitophore Vakuole wird aber nicht beobachtet.

Die Entwicklung von *Cystoisospora felis* erfolgt über eine ungeschlechtliche und eine geschlechtliche Vermehrung. Während der ungeschlechtlichen Vermehrung treten Schizogonien und Endodyogonien bzw. Endopolygonien auf, die geschlechtliche Vermehrung unterteilt sich in Mikrogamogonie und Makrogamogonie.

Die $12 \times 4 \mu\text{m}$ großen Sporozoiten dringen aktiv in die Epithelzelle ein; dort runden sie sich ab und werden zu Schizonten der 1. Generation. Dieser Vorgang konnte 48 Stunden p. i. beobachtet werden. Der Kern des jungen Schizonten ist groß und zentral gelegen, das Zytoplasma ist granuliert.

48 - 72 Stunden p. i. treten Teilungsformen mit 2, 4 und 8 Kernanlagen auf, die sich in Rosettenform um einen imaginären zentralen Punkt zusammenlagern. Diese Anlagen sind etwa $4 \times 8 \mu\text{m}$ groß und von dreieckiger Gestalt. Ihr Kern befindet sich in einem Mitosestadium und ist nicht ausdifferenziert. Aus diesen Merozoitenanlagen entwickeln sich durch weitere Mitosen noch einmal Stadien mit 8, 16 oder 24 Kernen, die die Grundlage für die Merozoitendifferenzierung darstellen. Weitere Kernteilungen finden in den Schizonten

der 1. Generation nicht mehr statt.

Die Schizonten der 1. Generation schwanken in der Größe je nach Anzahl der vorhandenen Merozoiten von 10×10 bis $30 \times 25 \mu\text{m}$. Sie werden am häufigsten 72 bis 96 Stunden p.i. gefunden. Die daraus hervorgehenden Merozoiten sind $10 - 15 \times 3 - 5 \mu\text{m}$ groß, je nachdem, ob sie von einem kleinen oder großen Schizonten stammen. Sie haben eine plumpe bis dreieckige Gestalt, ihr Zytoplasma ist hell basophil und von einer dünnen Pellikula umgeben. Der Zoitenkern liegt mittelständig, beansprucht etwa ein Drittel des Zelleibes und liegt der Pellikula an beiden Seiten eng an.

Die Merozoiten der 1. Schizontengeneration verlassen ihre Bildungsstätte und befallen eine neue Epithelzelle. Die eingedrunghenen Merozoiten transformieren sich in Schizonten der 2. Generation unter Aufquellung ihres Zellkerns. In ihrem Zytoplasma werden während der Kernteilungsphase eosinophile Granula gebildet. Sie behalten zum Teil ihre bananenförmige Gestalt, erreichen eine Größe von $15 \times 20 \mu\text{m}$ und bilden 2, 4 oder 8 Merozoiten aus.

Die Merozoiten der 2. Schizontengeneration treten 96 bis 120 Stunden p. i. auf. Ihre Länge beträgt $8 - 12 \mu\text{m}$, ihre Breite $2,5 - 4 \mu\text{m}$. Sie sind bananenförmig und liegen orangenscheibenähnlich im Schizonten. Der Kern ist etwa $2 \mu\text{m}$ im Durchmesser und findet sich im Vorderende des Merozoiten. Sie besitzen die Fähigkeit, in ihrem Mutterschizonten ihrerseits wieder vielkernige Formen zu bilden. So werden 120 - 144 Std. p. i. 8- kernige Schizonten der 2. Generation gefunden, deren Merozoiten ihrerseits wieder 2 - 3 Kerne enthalten. Diese Schizonten entlassen 16 bis 24 Merozoiten der 3. Generation ins Darmlumen. Auch zweikernige Schizonten der 2. Generation werden gesehen, deren Merozoiten wiederum 5 - 8 Kerne entwickeln. Das Zytoplasma dieser vielkernigen Merozoiten ist solange stark granuliert bis die Kernentwicklung abgeschlossen ist. Ihre Form ist pflastersteinartig.

$6 \times 2 \mu\text{m}$ kleine, schmale, stark basophile Merozoiten werden von diesen Mutterzellen abgetrennt. Ihr Zellkern liegt im vorderen Drittel und schmiegt sich der Pellikula eng an. Das

Verhältnis von Kernvolumen zu Zytoplasmavolumen ist etwa 1 : 1.

Lichtmikroskopisch sind verschieden lange Merozoiten der 3. Generation zu unterscheiden. Die kürzeren entwickeln sich in einer neu befallenen Epithelzelle unter Abkugelung und Quellung von Zytoplasma und Kern zu Makrogamonten, die längeren unter linearer Kernvermehrung zu Mikrogamonten. Abgekugelte Merozoiten der 3. Generation sind bereits 144 Stunden p.i. im Giemsapräparat sichtbar. Die ersten ausgereiften Gamonten wurden 168 Stunden p.i. beobachtet. 210 Stunden p.i. werden ausschließlich Makro- und Mikrogamonten sowie vielkernige Merozoiten (Mutterzellen) gefunden.

Die frühen Mikrogamonten liegen, wie die Makrogamonten, in einer parasitophoren Vakuole der Wirtsepithelzelle und haben dreieckige bis halbkugelige Form. Sie sind von den vielkernigen Merozoiten der 3. Generation nur durch ihr optisch dichteres Zytoplasma sowie die kleineren und peripher angeordneten Kerne zu unterscheiden. Die Kernteilungen erfolgen fortlaufend in 2 -er Potenzen, das heißt, jeder Kern bildet wieder 2 Tochterkerne aus.

Die reifen Mikrogamonten haben runde bis ovale Form und erreichen einen Durchmesser von 50 μ m. Die Kernanlagen sind gleichmäßig über das Zytoplasma verteilt. Etwa ab dem 64-Kernstadium sind deutliche Trennlinien zwischen den Kernanlagen sichtbar, so daß der Gamont ein maulbeerartiges Aussehen erhält. Die Mikrogamonten entlassen etwa 130 Mikrogameten gleichzeitig ins Darmlumen. Diese sind etwa 5 x 0,5 μ m groß und färben sich homogen eosinophil an. Geißeln waren zwar erkennbar, ihre genaue Anzahl an den Einzelindividuen wegen der Dichte ihres Auftretens nicht zählbar.

Die frühen, anfangs spindelförmigen Makrogamonten runden sich ab. Der erste Schritt der Makrogamogonie ist das Aufquellen des Zellkerns bis zu einer Größe von 4 x 5 μ m. Der Nukleolus ist dann nur noch schwach erkennbar. Durch den sich vergrößernden Zellkern buchtet sich die Pellikula vor. Parallel zur Kernvergrößerung tritt eine starke Ausdehnung des Zytoplasmas auf, so daß der Makrogamont schließlich kugelförmig

wird. Gamontenmembran, Kern und Nukleolus stellen sich als drei ineinanderliegende konzentrische Ringe dar.

Der Makrogamont wächst bis zu einer Größe von ca 30 μ m heran und kann jetzt als Makrogamet bezeichnet werden. Das Zytoplasma weist zahlreiche eosinophile Granula auf. Als Besonderheit werden an der Peripherie des Makrogameten Verdichtungen aus rot angefärbtem Chromatin (180 - 210 Std. p.i.) festgestellt.

Die ersten Oozysten traten 168 Stunden p.i. auf. Sie zeigen im Nativpräparat den typischen Aufbau aller Kokzidienoozysten. Wegen ihrer derben und dicken Hülle war eine Anfärbung im Ausstrichpräparat nicht möglich; deshalb wurde auch auf eine Untersuchung im Elektronenmikroskop verzichtet.

2. Elektronenmikroskopische Untersuchungen

Auch bei unseren elektronenmikroskopischen Untersuchungen ließen sich die Entwicklungsstadien sowohl der ungeschlechtlichen Vermehrungsphase (Schizogonie, Endodyogenie und Endopolygenie) als auch der geschlechtlichen Phase (Mikro- und Makrogamonten, Zygote) deutlich darstellen.

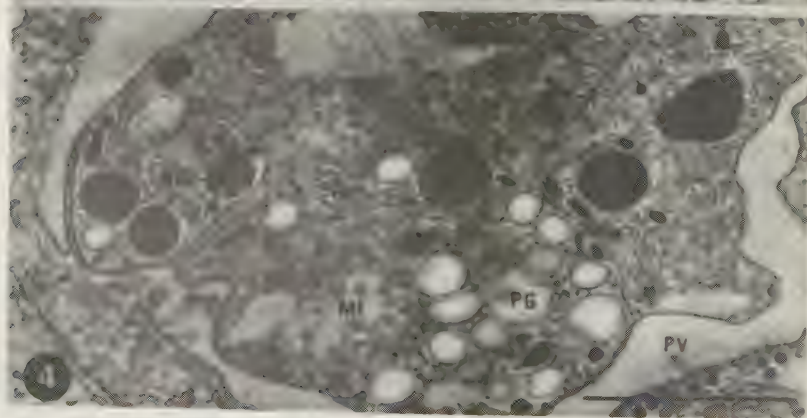
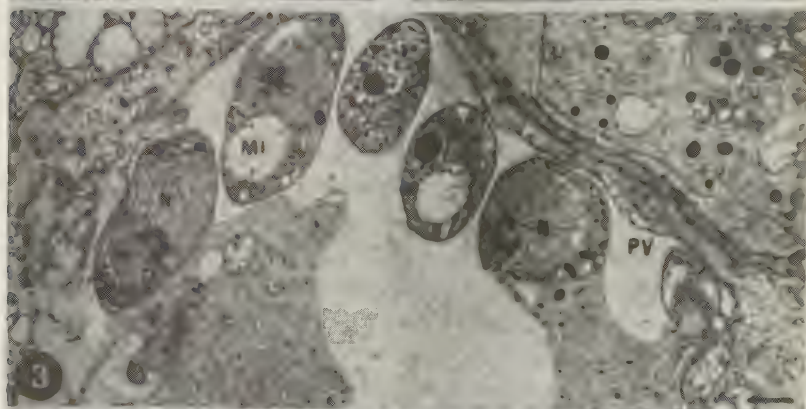
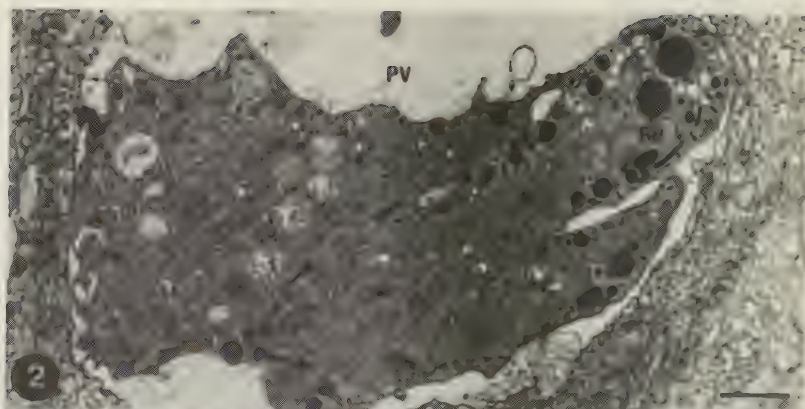
a) ungeschlechtliche Vermehrung

Schizonten werden von einer Einheitsmembran umschlossen. Sie liegen in einer von Wirtsgewebe umschlossenen parasitophoren Vakuole (PV). Diese (Abb. 2 und 3) paßt sich der Größenzunahme des Schizonten an. Sie wird von einer starken, mindestens zweiblättrigen Membran umschlossen, die von der Epithelzelle des Wirtes gebildet wird. Diese Wirtsmembran liegt dem jungen Schizonten eng an und bildet aus Verdichtungen des Wirts r ER etwa 60nm dicke, runde Plaques aus, die zwischen Wirtsmembran und Parasitenmembran eine reißverschlußartige Verbindung (Abb. 2, Pfeile) herstellen. Nach der Differenzierung des Schizonten lösen sich diese Verbindungen und bleiben in den Krypten der Membran der parasitophoren Vakuole liegen.

Junge Schizonten stellen sich rund bis oval dar und zeigen einen großen Kern, der durch zahlreiche aufeinanderfolgende Mitosen bis zu 24 Tochterkerne produziert. Die einzelnen Kerne werden an die Peripherie des Parasiten verlagert. Unter Hinzuziehung des Schizonten - ER werden an den Kernen allmählich Membranen gebildet (Abb. 4), wodurch eine Abgrenzung der Merozoiten eingeleitet wird. Neben dem ER (= Endoplasmatisches Reticulum) werden im Schizonten nur noch Mitochondrien vom Tubulustyp (MI) sowie vereinzelt Polysaccharidgranula (PG) beobachtet.

Abb. 2 - 4: Schizogonie von C. felis (96 - 120 Std. p.i.)

- Abb. 2: Schizont mit fingerförmigen Ausstülpungen
- Abb. 3: Schizont mit freigesetzten Merozoiten
- Abb. 4: Differenzierung von Merozoiten aus dem Zytoplasma



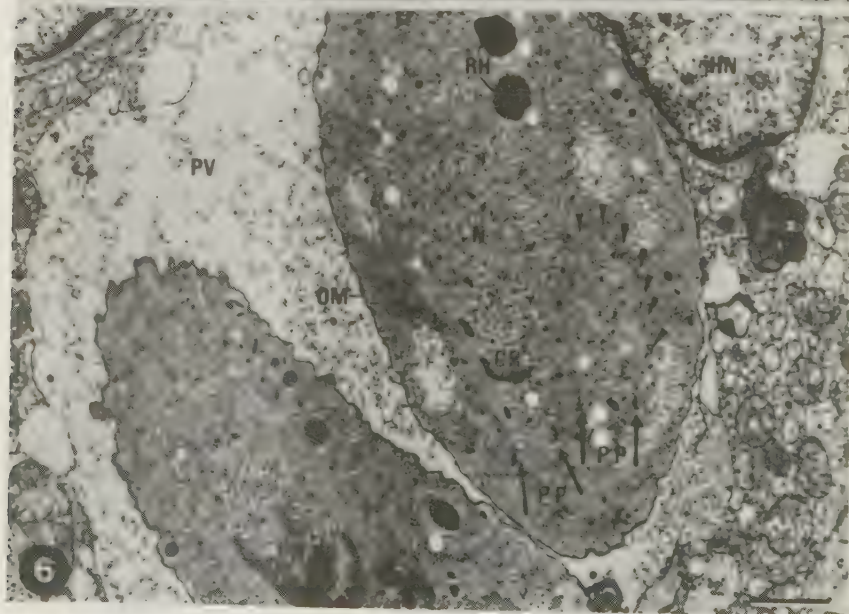
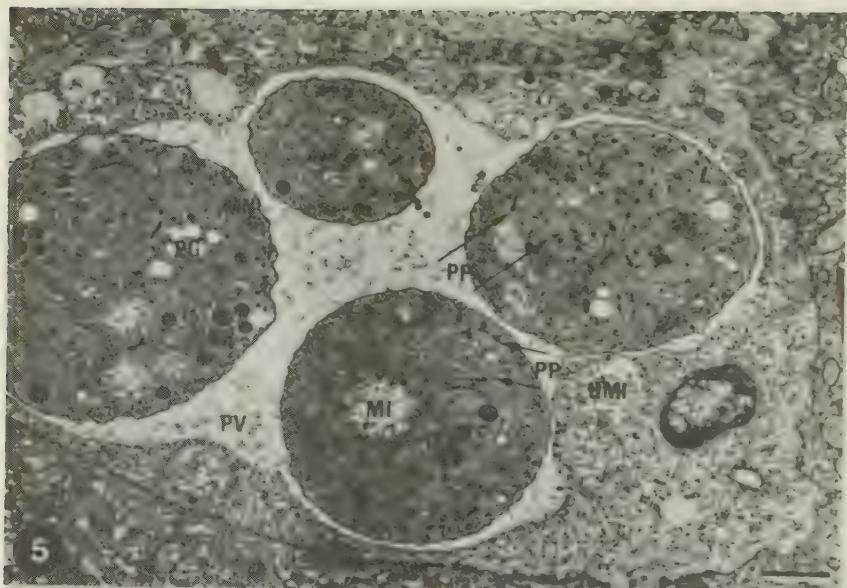
Die jungen Merozoiten zeigen den typischen Aufbau der Kokzidienmerozoiten mit zahlreichen Rhoptrien (RH) und Mikronemen (MN), die sich im vorderen Drittel des Parasiten konzentrieren. Ein Conoid wird ebenfalls beobachtet. Mitochondrien und Polysaccharidgrana werden im gesamten Zytoplasma angetroffen (Abb. 2 - 4). Alle diese Zellbestandteile werden offenbar vom hinteren Pol her (Abb. 2, PP), der erst spät durch Membranen verschlossen wird, von dem Schizonten aus eingeschleust oder gebildet. Mit zunehmender Entwicklung der Merozoiten (Abb. 3) wird das Schizontenzytoplasma aufgelöst, die Merozoiten biegen zur Peripherie ein und ragen fingerförmig aus dem Schizonten hervor. (Abb. 4).

Die durch Schizogonie gebildeten Merozoiten verlassen die Wirtszelle sofort nach ihrer endgültigen Differenzierung. Sie befallen wieder neue Epithelzellen, wo sie sich abrunden und dadurch ihre typische Bananenform verlieren. Von Seiten des Wirtsgewebes kommt es um den Parasiten zu einer hohen Verdichtung der Zellbestandteile wie Endoplasmatisches Reticulum und Mitochondrien vom Cristatyp (Abb. 6 und 8), sodaß eine parasitophore Vakuole um den Merozoiten gebildet wird. Die äußere Form, der sich nun zu Mutterzellen differenzierenden Merozoiten ist von spindelförmig gedrungener bis ovoider Gestalt (Abb. 6). Ihre Pellikula besteht aus einer äußeren dicken Membran und einer dieser nur noch stellenweise unterlagerten dünnen inneren Membran (Abb. 5 u. 6, OM, IM). Neben den noch vorhandenen Organellen des Apikalkomplexes, wie Rhoptrien und Mikronemen, werden Mitochondrienanschnitte, Reservestoffgrana (Polysaccharide) und ER beobachtet.

Abb. 5 - 8: Endodyogenien von *C. felis* (120 - 144 Std. p.i.)

Abb. 5: 4 Mutterzellen im Querschnitt mit Tochteranlagen (Pfeile, PP) in einer von lockeren Wirtsgewebe umgebenen Vakuole (PV) liegend

Abb. 6: 2 Mutterzellen mit je 2 Tochterzellenanlagen (Pfeile PP)



Auffallend ist das Verhalten des Zellkerns (Abb. 6, N), der sich als groß und langgestreckt darstellt. Seine Membran ist nur undeutlich ausgeprägt. An seiner Peripherie kommt es zu Chromatinverdichtungen (Abb. 6, CH).

Anzeichen für vielfach ablaufende Kernteilungen konnten nicht festgestellt werden. Stattdessen weisen die in den Mutterzellen anzutreffenden Membranstrukturen auf ablaufende Endodyogenien hin. So werden in einer Mutterzelle 2 Tochterzellanlagen (Abb. 6) beobachtet, die charakterisiert sind durch die deutlich verdickten und noch nicht geschlossenen Membranenden am hinteren Pol (PP). Der Häufigkeit der vorhandenen Parasiten nach zu schließen laufen mehrere Endodyogenien hintereinander ab.

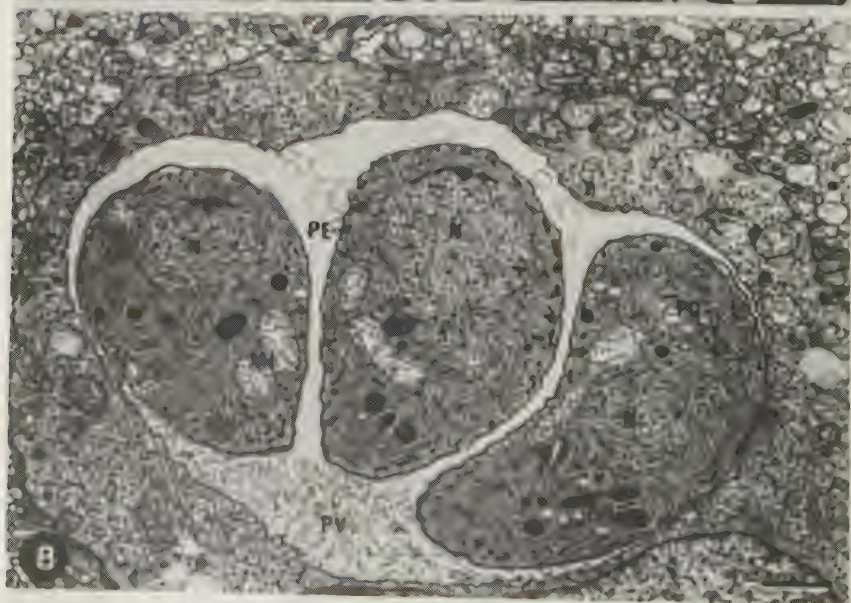
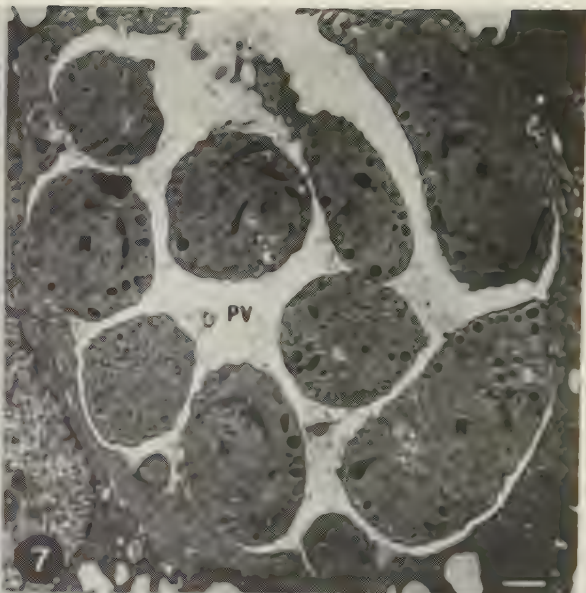
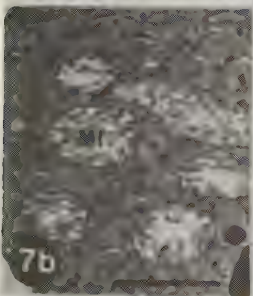
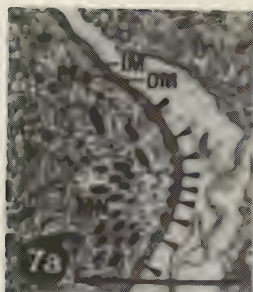
4 - 6 Tage p.i. werden hauptsächlich die Endprodukte der Endodyogenie gefunden. Es handelt sich dabei um bis zu 10 ausgebildete typische Merozoiten, die in klar abgegrenzten parasitophoren Vakuolen intraepithelial gelegen sind. Während in Schizonten die Merozoiten immer fingerförmig zentrifugal zeigen (Abb. 2), liegen die Merozoiten nach einer Endodyogenie unregelmäßig in einer Vakuole (Abb. 7, 8). Irgendwelche Reste der Mutterzellen werden nicht mehr vorgefunden. Ihre Gestalt ist typisch bananenförmig, gedrunken bis schlank. Umgeben sind sie von einer durchgehend doppelblättrigen Pellikula (PE, Abb. 8 und 7a), wobei die äußere Membran (Abb. 7a, OM) dicker ist als die innere (IM).

Abb. 7: 10 durch Endodyogenie entstandene Tochterzellen, in einer spezifischen Vakuole liegend

Abb.7a: Apikalkomplex eines aus der Endodyogenie hervorgegangenen Merozoiten

Abb.7b: Mitochondrien vom tubulären Typ eines Merozoiten nach Endodyogenie

Abb. 8: Tochterzellen nach Endodyogenie; charakteristisches Fehlen eines Restkörpers (vergl. dazu Abb. 2 und 3)



Unter der Pellikula laufen subpellikuläre Mikrotubuli (Abb. 7a, Pfeile). Bei den vielfach getroffenen Mitochondrien dürfte es sich um Anschnitte durch ein einziges gewundenes Mitochondrium (Abb. 7b und 8, MI) handeln.

Rhoptrien und Mikronemen (RH, MN) liegen vorzugsweise im apikalen Teil des Merozoiten, können jedoch auch über den gesamten Zelleib verstreut sein. Vereinzelt wurden auch Polysaccharidgranula (PG) angetroffen.

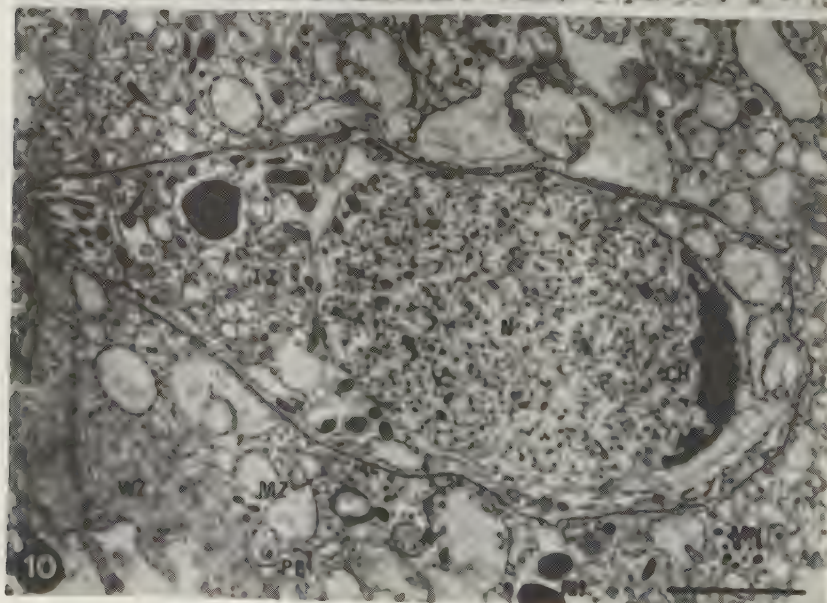
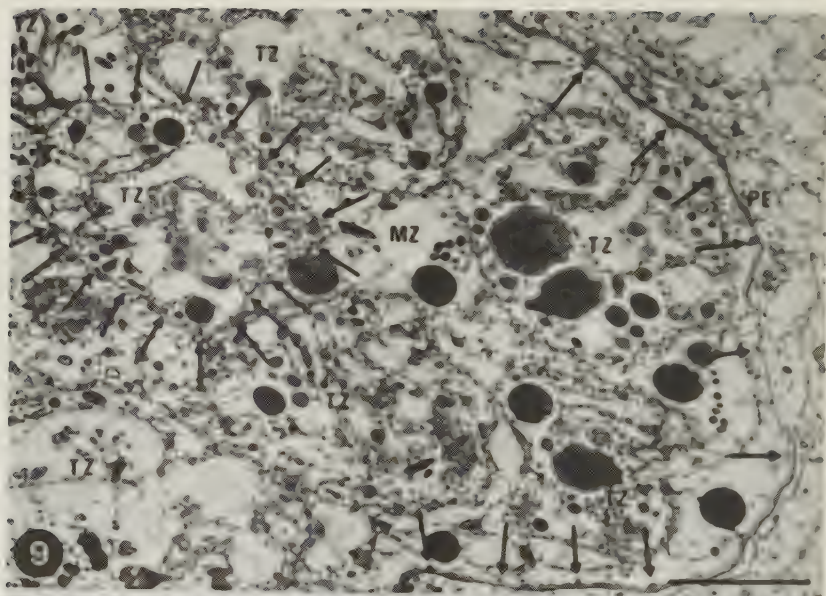
Anzeichen für die Ausbildung eines Conoids fehlen diesen Stadien. Möglicherweise bleiben sie stationär, um nachfolgend eine weitere ungeschlechtliche Vermehrung durchzumachen (Abb. 9). Es handelt sich hierbei um eine Mutterzelle, in der durch Kryptomitosen Kernvermehrungen stattfinden. Die Mutterzelle selbst ist von einer Pellikula umhüllt, welche aus einer äußeren dicken und einer inneren dünnen Membran (Abb. 9, PE) aufgebaut ist. In regelmäßigen Abständen zueinander liegen die subpellikulären Mikrotubuli (Pfeile). Das stark aufgelockerte Zytoplasma läßt noch Reste von Rhoptrien, Mikronemen, Ergastoplasma und Ribosomen erkennen.

Innerhalb der Mutterzelle liegen verstreut 8 oder mehr Tochterzellen II, die durch Endopolygenie entstanden sind (Abb. 9, TZ). Diese sind von einer einfachen Pellikula umschlossen. Darunter laufen gut ausgebildete, subpellikuläre Mikrotubuli (Pfeile). Ebenso werden in ihrem Zytoplasma sämtliche Zellorganellen eines reifen Merozoiten festgestellt.

Abb. 9 und 10: Endopolygenie von C. felis (144 -168 Std. p.i.)

Abb. 9: Eine Mutterzelle mit mehreren Tochterzellanlagen. Pfeile deuten auf subpellikuläre Mikrotubuli sowohl der Mutterzelle als auch der Tochterzellen

Abb. 10: Ein aus einer Endopolygenie entwickelter Merozoit verläßt die Mutterzelle. Die Merozoitenpellikula ist noch einfach, der Apikalkomplex bereits vollständig ausgebildet



Betrachtet man die Merozoiten I aus der Endodyogenie und die Merozoiten II aus der Endopolygenie vergleichend, so fällt auf, daß letztere nur eine Membran, weniger Rhoptrien und Mikronemen sowie eine schlankere äußere Form besitzen. Ihr Apikalkomplex ist charakterisiert durch ein gut ausgebildetes Conoid (Abb. 10, C) mit darüberliegendem präconoidalem Ring (PR). Mit dem apikalen Pol voran verläßt der Merozoit II die von Wirtsgewebe umgebene Mutterzelle (Abb. 10). Über den zeitlichen Verlauf der Freisetzung der Tochtermerozoiten aus den Mutterzellen können keine direkten Beobachtungen mitgeteilt werden. Jedoch deutet Abbildung 9 auf einen synchronen Ablauf hin. Die Pellikula der Mutterzelle steht in engem Kontakt zum Wirtsgewebe (Abb. 9 und 10, PE). Eine parasitophore Vakuole scheint hier nicht zu existieren.

b) Geschlechtliche Vermehrung

Die geschlechtliche Vermehrung bei *Cystoisospora* wird als Gamogonie beschrieben. Es wird unterschieden zwischen Mikrogamogonie und Makrogamogonie, Zygote und Oozyste.

Der aus einer Mutterzelle hervorgegangene Merozoit dringt in eine neue Epithelzelle ein und wird von der Wirtszelle mit einer eng anliegenden Membran umgeben. Diese besteht aus einer stellenweise stark gefältelten, dicken, osmiophilen Schicht. In den zur Wirtszelle ausgerichteten Falten liegen elektronendichte, kompakte oder mit zentralem Lumen versehene, runde Plaques. Die den Mikrogamonten umgebende parasitophore Vakuole stellt einen schmalen Raum dar, der nur gelegentlich größere Lakunen aufweist (Abb. 12 und 13, PV).

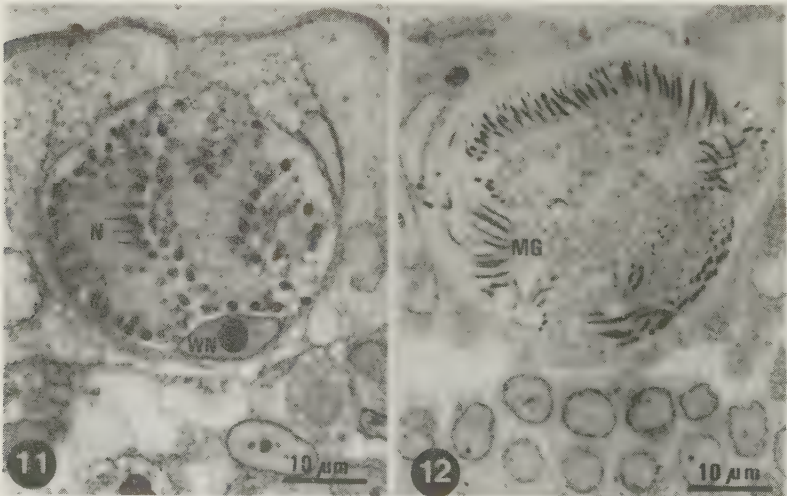


Abb. 11: Mikrogamont mit peripher angeordneten Zellkernen

Abb. 12: Mikrogamont mit ausdifferenzierten Mikrogameten

Der Mikrogamont selbst erreicht eine durchschnittliche Größe von $50\mu\text{m}$ im Durchmesser und zerstört das umliegende Zytoplasma der Epithelzelle nahezu vollständig. Der Wirtszellkern ist basalständig und aufgequollen (Abb. 11). Er degeneriert unter starker Kompression durch den Parasiten. Der in die Epithelzelle eingedrungene Trophozoit (=transformierter Mikromerozoit) ist einkernig, etwa $7\mu\text{m}$ lang und $2,5\mu\text{m}$ breit. Er besitzt eine ca. 50 nm dicke Doppelmembran als Pellikula. Der Mikromerozoit transformiert sich unter Verlust seines Conoids. Er nimmt ellipsoide bis ovale Form an.

Aus seinem Nukleus entwickelt sich unter mehrfacher mitotischer Kernteilung ein vielkerniges Gebilde (Abb. 13, N) bis zum reifen Mikrogamonten. Jede Kernteilung erfolgt unter Ausbildung exzentrisch gelegenen Kernspindel und zwei außerhalb des Kernes gelegenen Centriolen (Abb. 14, 15, CC u. CE). Während die Kerne des jungen Mikrogamonten (Abb. 13) von schlauchartigen Verdichtungen des ER umgeben sind und mehr im Zentrum des Gamonten liegen, wandern sie mit zunehmender Differenzierung an die Peripherie (Abb. 17, N) und legen sich dort unter der Elementarmembran an. Das Zytoplasma des jungen Mikrogamonten ist sehr ribosomendicht von zahlreichen Mitochondrien und Polysaccharidgrana durchsetzt. Das stark ausgeprägte Chromatin verschwindet mit zunehmenden Kernteilungen.

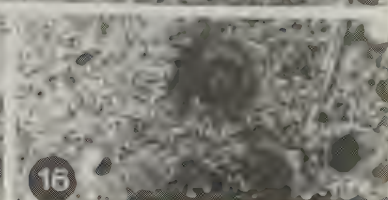
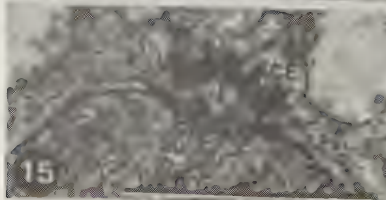
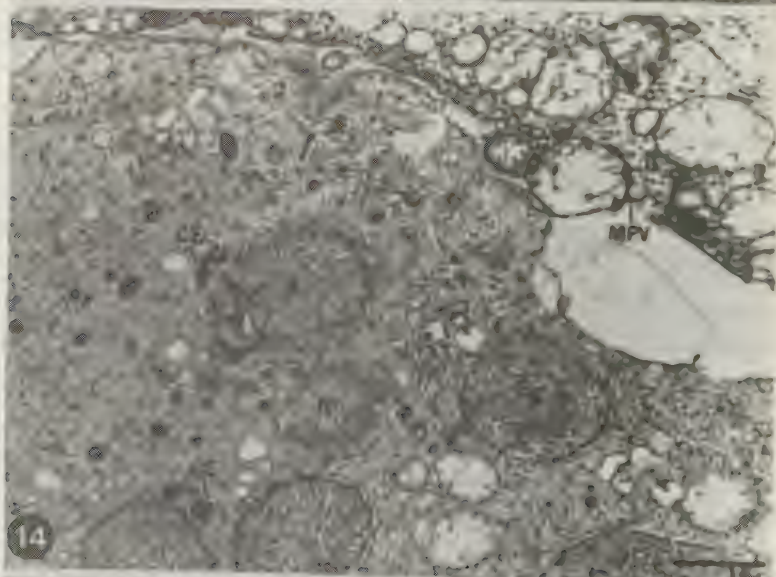
Die ausdifferenzierten Mikrogametenkerne (Abb. 17) sind $1 - 2\mu\text{m}$ groß und haben eine etwa 30 nm starke Doppelmembran.

Abb. 13 - 18: Mikrogamogonie, 168 - 210 Stunden p.i.

Abb. 13: Junger Mikrogamont mit zentral angelegten Kernen

Abb. 14: Mikrogamont mit Kernen im Teilungsstadium

Abb. 15 und 16: Bildausschnitte aus Mikrogamonten mit Kernen in Teilung. Die Centriolen sind doppelt und werden in Abb. 16 im Längs- und im Querschnitt getroffen



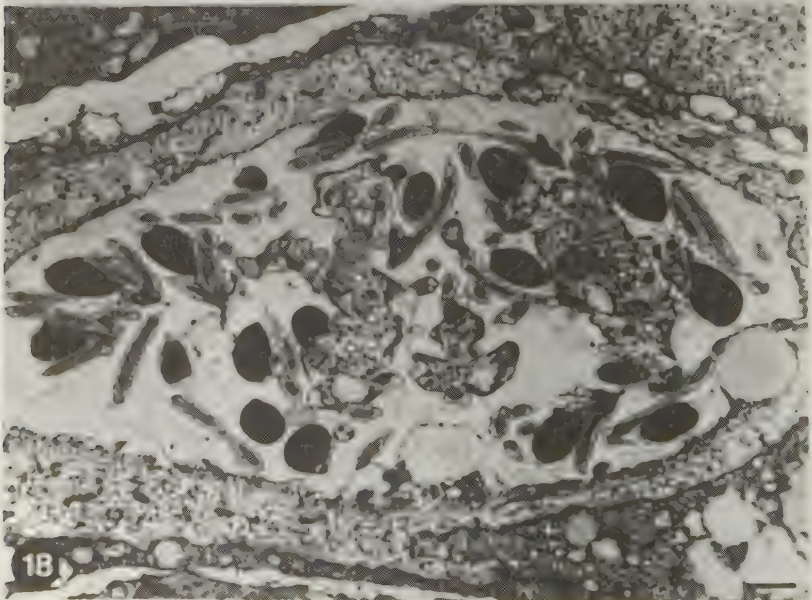
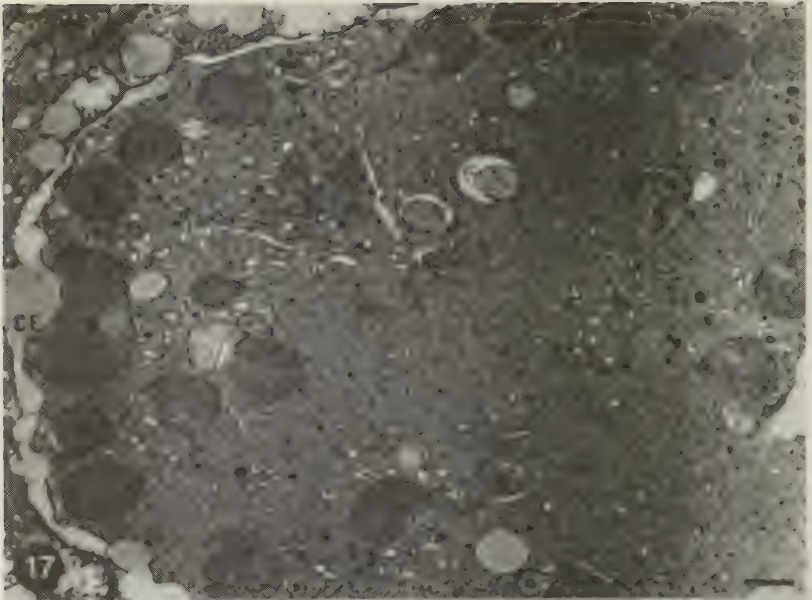
Der reife Mikrogamont hat ein mehr homogenes Zytoplasma, das von einer Pellikula umgeben ist, die nur noch stellenweise aus einer Doppelmembran besteht. Die innere Membran wird mit zunehmendem Reifezustand abgebaut (Abb. 13, 14, 17). Das ER verschwindet nahezu vollständig. Mitochondrien und Kernanlagen, begleitet von Centriolen (Abb. 17, CE) treten entlang der Gamontenmembran auf, wobei je ein Mitochondrium einen Kern begleitet. Der Differenzierungsgrad nimmt dabei vom Zentrum zur Peripherie hin zu. Polysaccharidgrana sind über das gesamte Zytoplasma hin verstreut.

Die Mikrogametenbildung beginnt mit Verdichtungen unter der Mikrogamontenmembran an den Stellen, an denen die Tochterzellkerne liegen (Abb. 17). Es bilden sich nun von der Peripherie aus zentripetal die Organellen des Mikrogameten aus. Aus den Verdichtungen über dem Zellkern könnte das Perforatorium entstehen (Abb. 17, CE). Kurz bevor der Mikrogamet ausdifferenziert, wird ihm basalständig ein Mitochondrium angelegt.

Der Kern verläßt als erster die Mutterzelle über eine Exvagination derselben, Mitochondrium und andere Zellorganellen folgen nach. Zurück bleiben ein Restkern, diverse Mitochondrien und Anschnitte von Organellen. Ob sich daraus noch ein Mikrogamet entwickeln kann, ist nicht klar. Wie die Abb. 12 im lichtmikroskopischen und die Abb. 18 im elektronenmikroskopischen Bild zeigen, wird schließlich die gesamte Zellsubstanz des Mikrogamonten für die Differenzierung der vielen Mikrogameten verwendet. Restsubstanz ist nur spärlich vorhanden,

Abb. 17: Reifer Mikrogamont mit peripher angeordneten Kernen

Abb. 18: Mikrogameten entwickeln sich unter Zurücklassen eines Restkerns im reifen Mikrogamonten



Der reife Mikrogamet ist von länglicher Gestalt und hat eine Größe von ca. $1 \times 6 \mu\text{m}$ (ohne Geißeln). Er besteht aus einem plumpen Hinterende und einem geißeltragenden Vorderende. Der Zelleib enthält den Gametenkern und ein ihm aufgelagertes Mitochondrium. Er wird, ebenso wie die im Apikalkomplex liegenden Geißeln, von einer Einheitsmembran umschlossen. Beiderseits des Mikrogametenkernes laufen zwei frei Geißeln nach hinten. Vom Perforatorium ausgehend zwischen Kern und Mitochondrium gelegen läuft eine dritte Geißel nach hinten (Abb. 19, 20, PF und F_3). Seitlich zwischen Kern und der dritten Geißel ist das Mitochondrium eingeschoben (Abb. 19, MI). Die beiden Hauptgeißeln (Abb. 19, F_1 und F_2) entspringen jeweils aus einer Basalplatte (BP). Als Basisteil des Geißelapparates dient der Blepharoplast (Abb. 20, BL). Er zeigt zum Zytoplasma hin keine deutliche Begrenzung. Während die beiden seitlichen Geißelpaare an der Basalplatte entspringen, scheinen die Zentralfibrillen aus der Basis des Blepharoplasten zu entstehen. Im Querschnitt durch die Geißel wird die typische wagenradförmige 9 : 2 - Symmetrie der Fibrillen erkannt. Die dritte Geißel (Abb. 19, F_3) wird nur teilweise beobachtet. Sie scheint ebenfalls eine Basalplatte zu haben, von der aus der Fibrillarkörper quer über den Gameten verläuft. Eine Verwachsung mit der Pellikula des Mikrogameten scheint wahrscheinlicher.

Abb. 19 und 20: Mikrogameten (Ausschnittvergrößerungen aus Abb. 18)

Deutlich zu erkennen sind Gametenkern, Mitochondrium und 3 aus einer Basalplatte entspringende Geißeln



Der aus einer Mutterzelle hervorgegangene Makromerozoit dringt mit seinem Conoid in eine neue Epithelzelle ein und transformiert sich dort unter Verlust des Conoids zum Makrogamonten (Abb. 21).

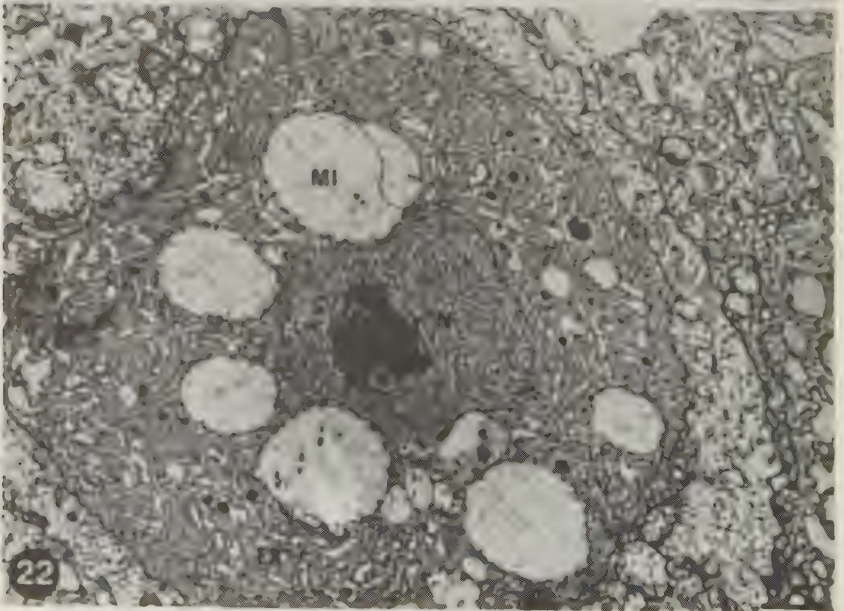
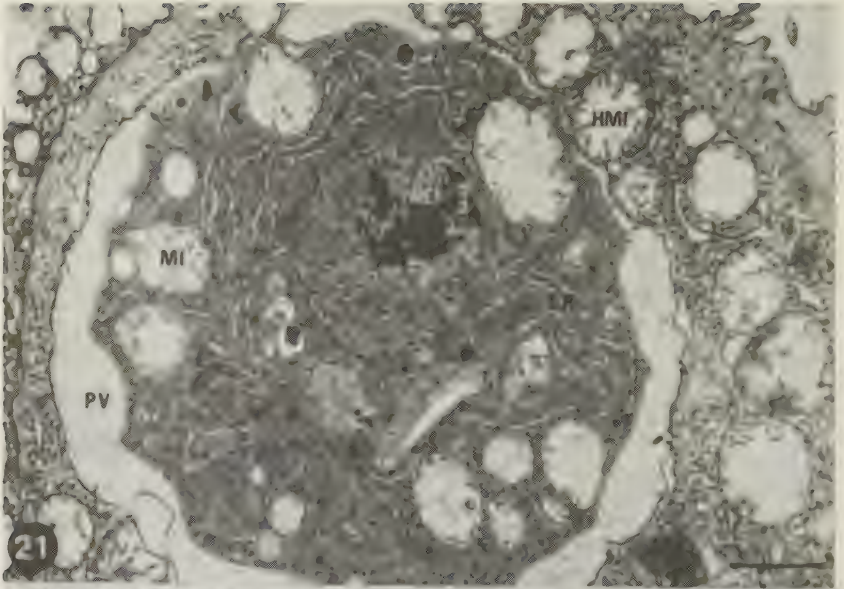
Dieser nimmt runde Gestalt an und wird von einer Doppelmembran umschlossen. Das mit sehr vielen Ribosomen angefüllte Zytoplasma stellt sich stark osmiophil dar. Rhoptrien und Mikronemen sind rudimentär und werden schließlich aufgelöst. Das Zytoplasma wird von einem deutlich abgesetzten endoplasmatischen Reticulum (ER) durchzogen. Große Mitochondrien vom tubulären Typ (MI) liegen vorzugsweise randständig unter der Pellikula. Der Kern ist deutlich abgesetzt und wird von einer starken Kernmembran umgeben. Die Kernsubstanz ist mit feinen Chromatinpartikeln durchsetzt. Etwas exzentrisch liegt der aus kondensiertem Chromatin bestehende Nukleolus.

Zur Wirtszelle hin wird der junge Makrogamont von einer breiten parasitophoren Vakuole umgeben (Abb. 21, PV). Diese ist mit locker schaumigem Material ausgefüllt. Ihren Abschluß bildet, wie schon im Mikrogamonten vorher beschrieben, eine dicke, mehrschichtige, stark osmiophile Membran. Ihr Verlauf ist stellenweise glatt oder mäanderförmig. In ihren einzeln ausgebildeten Buchten werden osmiophile Plaques (Abb. 21, 26, Pfeile) gebildet, die einen ähnlichen ringförmigen Aufbau wie die Membran zeigen. Das Wirtsgewebe lagert um die parasitophore Vakuole herum zahlreiche Mitochondrien vom Cristatyp (Abb. 21, HMI) an.

Abb. 21 - 26: Makrogamogonie von *Cystoisospora felis*
168 - 210 Stunden p. i.

Abb. 21: Junger Makrogamont mit peripher angeordneten Mitochondrien

Abb. 22: Reiferer Makrogamont mit Anlagen von Hüllbildungskörpern



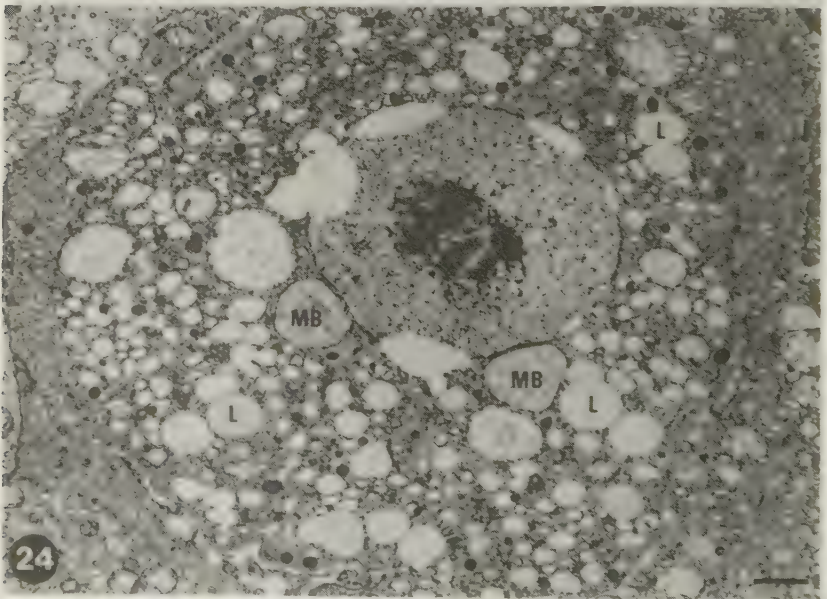
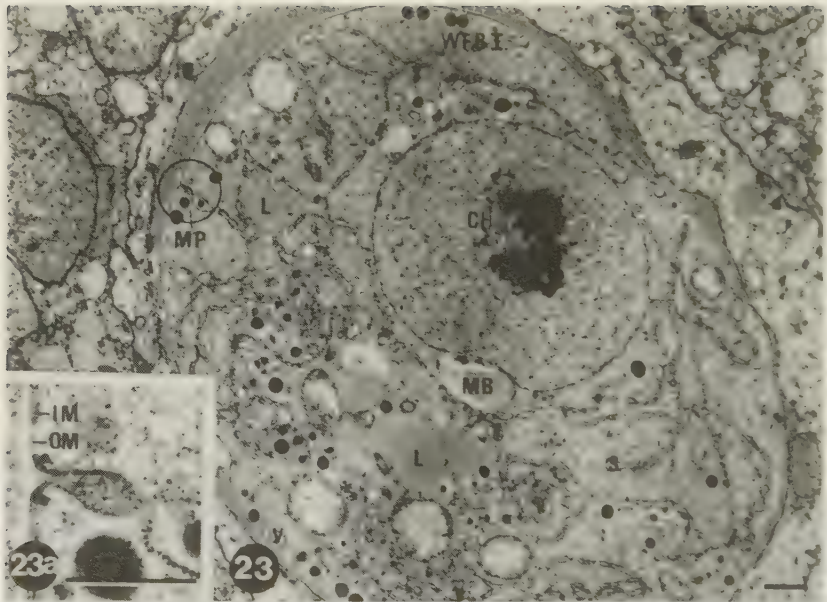
Mit zunehmender Reifung des Makrogamonten bleibt die doppelblättrige Pellikula unverändert (Abb. 22). Das Zytoplasma nimmt an Ausdehnung zu, während der Kern ab einer Größe von ca. 5 μ m nicht mehr expandiert. Ein zu Lakunenbildung neigendes ER durchzieht das Zytoplasma. Die Mitochondrien liegen um den Kern herum angeordnet und sehen stark gequollen aus.

Die Gamontenmembran zeigt im ausdifferenzierten Stadium (Abb. 23) eine etwa 40 nm dicke Doppellamelle (Abb. 23a). In den vorliegenden Untersuchungen wurden pro Mikrogamont jeweils eine Mikropore (Abb. 23 und 23a, MP) beobachtet. Dabei bildet die äußere Membran der Pellikula des Makrogamonten (Abb. 23a, OM) ein sackartiges, zytoplasmawärts gestülptes Gebilde. An seinem Halsteil endet die innere Membran (IM) der Pellikula mit einer Verdickung. Der Zellmund ist von granulärem Material ausgefüllt. Das ER bildet in seiner Nähe Lakunen aus, mit denen er in Verbindung zu stehen scheint.

Die Gamontenmembran liegt der Wirtsmembran stellenweise eng an, sodaß das Lumen der parasitophoren Vakuole nahezu vollständig ausgefüllt wird; an anderen Stellen wird noch eine breite parasitophore Vakuole, mit dichtem granulärem Material angefüllt, gefunden. Die Bahnen des ER stellen sich nun als abgeschlossene, schlauchartige Gebilde dar, die sich zum Teil in Säckchen (S) und Vesikel (V) öffnen; dazwischen liegen Lipidtröpfchen (Abb. 23, L).

Abb. 23 und 23a: Makrogamont in Differenzierung zum Makrogameten mit Maturationskörper (MB); Mikropore und Membranen werden in Abb. 23a dargestellt

Abb. 24: Reifer Makrogamont mit 2 Maturationskörpern und zahlreichen Lipidvakuolen



Peripher unter der Pellikula liegen differenzierte Bildungskörper I (WFB I) mit einem Durchmesser von ca. 300 nm und ihre Vorstufen. Sie stellen sich als knäueiförmige bis runde Gebilde dar (Abb. 23, WFB I). Maturationskörper liegen der Kernmembran dicht an (Abb. 23 und 24).

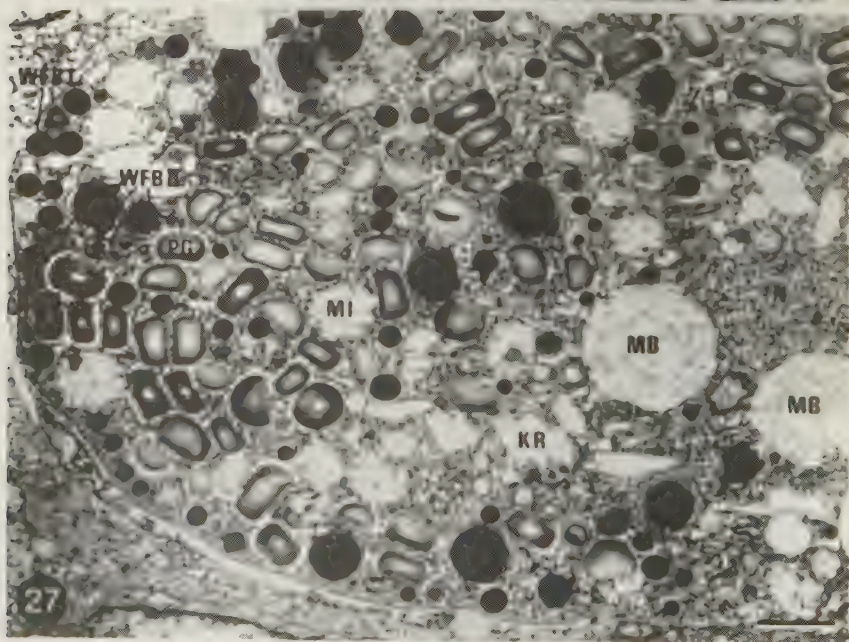
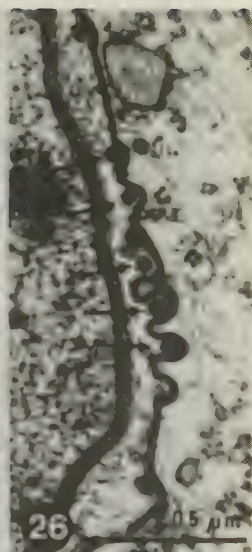
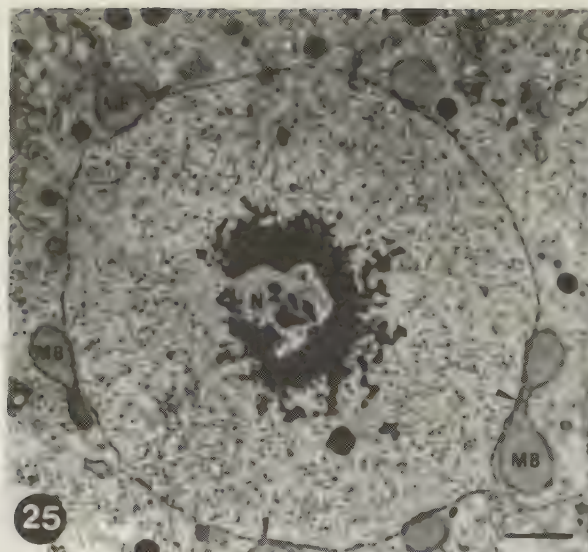
Im weiteren Verlauf der Differenzierung nehmen die Lipide erheblich zu (Abb. 24, L). Die parasitophore Vakuole ist kaum noch sichtbar aufgrund des großen Volumens des inzwischen befruchtungsreifen, $15 \times 20 \mu\text{m}$ großen, als Makrogameten zu bezeichnenden Parasiten (Abb. 24), zahlreiche Hüllbildungskörper vom Typ I und Typ II werden im Zytoplasma verstreut gefunden. Die WFB I sind bereits ausdifferenziert, während die WFB II zum Teil undifferenziert in ihren Bildungsstätten, charakteristische Lakunen des ER, gefunden werden.

Die Maturationskörper (Abb. 24, MB) erscheinen als doppel-lamellige, der Kernmembran eng anliegende Gebilde und enthalten kernsubstanzartiges Material. Auch Abb. 25 zeigt im Bildausschnitt einen Makrogametenzellkern mit 6 dicht der Kernmembran anliegenden Maturationskörpern. Diese sind meist ovoid. Hantelförmige Formen treten ebenfalls auf, wobei es sich um Teilungsformen handeln dürfte. Umhüllt sind diese Körper von einer Doppelmembran. Die ovoiden Formen sind meist mit der Kernmembran so verschmolzen, daß zwischen beiden Organellen eine Einheit besteht (Abb. 25, Pfeile). Auffallend am Zellkern des Makrogameten ist das sich aus der Kondensation verteilende Chromatin (Abb. 24, CH).

Abb. 25: Makrogametenkern mit angelagerten polymorphen Maturationskörpern

Abb. 26: Begrenzung der parasitophoren Vakuole durch eine Wirtsmembran mit eingelagerten, runden Plaques (Pfeile)

Abb. 27: Zygote mit zahlreichen WFB I und WFB II, Polysaccharidgranula und Kristallinen Substanzen (KR)



Der Vorgang der Befruchtung bei *Cystoisospora felis* konnte nicht beobachtet werden. Nach diesem Prozeß gebildete Zygoten (Abb. 27 und 28) werden als kontinuierliche Fortentwicklung der Makrogameten auch mit deren mikromorphologischem Aufbau Ähnlichkeit haben. Sie unterscheiden sich von diesen, wie die Abb. 24, 27 und 28 deutlich zeigen, hauptsächlich durch die große Anzahl von Reservestoffen (Polysaccharide und Lipide), die über das gesamte Zytoplasma verteilt sind. Hierzu sind auch kristallkörperartige Strukturen zu zählen, die von anderen Autoren fälschlicherweise als ER bezeichnet werden. Während die frühen WFB II auch schon im Makrogameten auftreten im Gegensatz zu *Eimeria*, wo die WFB I. als erste auftreten sollen, aber noch nicht voll entwickelt sind, werden diese in der Zygote (Abb. 27, WFB I und WFB II) häufig in kleinen und großen, jeweils mit einer Membran umgebenen Form angetroffen. Ihr Inhalt nimmt zunehmend dichtere Struktur an, bis er schließlich stark osmiophil ist. Sie werden immer von ER umflossen oder stehen mit diesem in Verbindung. Die später gebildeten WFB I. (Abb. 27 und 28) treten sowohl bei Makrogameten als auch bei Zygoten bzw. jungen Oozysten sehr häufig auf. Sie stellen sich als kleine, runde, osmophile Partikel dar. Sie haben keine abgesetzte äußere Begrenzung.

Wie Abb. 28 zeigt, verschmelzen während der Hüllbildung die beiden Membranen der Pellikula (PE) miteinander und der Raum der parasitophoren Vakuole wird breiter. Er ist nun von homogen dichten, feingranuliertem Material ausgefüllt. Sehr selten werden in diesem Stadium Mitochondrien angetroffen. Maturationskörper von ovoider Form liegen dicht an der Kernmembran an, andere von piriformer Gestalt scheinen sich von diesen wegzuverlagern (Abb. 28, MB).

Abb. 28: Junge Oozyste nach Verschmelzung der Außenmembran, Vergrößerung der parasitophoren Vakuole und teilweisem Abrücken der Maturationskörper vom Zellkern



IV. Besprechung der Ergebnisse

Große Probleme bereiteten bis jetzt vor allem die ungeschlechtliche Vermehrung von *Cystoisospora felis*, wie aus den teilweise widersprüchlichen Angaben in der Literatur zu entnehmen ist (HITCHCOCK, 1955; LICKFELD, 1959; SHAH, 1971).

Einheitlich ist die erste Schizogonie beschrieben worden. Allerdings gibt es unterschiedliche Angaben über die Anzahl der aus dieser Schizogonie entstandenen Merozoiten. Häufig wurden 8, 12, 16 und 20 Merozoiten im Paraffinschnitt gezählt (LICKFELD, 1959; SHAH, 1971).

Wir beobachteten in Giemsa - Ausstrichpräparaten 96 - 120 Stunden p. i. Schizonten mit 8, 16 und 24 ausdifferenzierten Merozoiten unterschiedlicher Größe in ein und demselben Präparat. Frühe Schizonten mit 2, 4 und 8 rosettenartig angeordneten, gleich großen Merozoitenanlagen wurden 76 Stunden p. i. gefunden. Diese Angaben decken sich mit den elektronenmikroskopischen Untersuchungen, die das Vorkommen einer Schizogonie im herkömmlichen Sinn eindeutig belegt. Es werden Merozoiten beschrieben, die sich in fingerförmigen Ausstülpungen der Schizontenmembran unter Zurücklassen eines Restkörpers entwickeln. Diese Merozoiten besitzen ein Conoid, Mikronemen und Mikrotubuli, zeigen damit die typische Struktur der Kokzidienmerozoiten.

LICKFELD (1959) sah im Anschluß an diese Schizogonie eine "cyst form", in der sich bis zu 6 spindelförmige Merozoiten entwickeln, die später vielkernig werden. Er bezeichnete diese vielkernige Form in der gemeinsamen Mutterzyste als Schizonten der 2. Generation und die daraus hervorgehenden Merozoiten als Mikromerozoiten. SHAH (1971) beobachtete ähnlich wie LICKFELD (1959) mehrkernige Merozoiten in einer Vakuole liegend. Er beschrieb 3 zweikernige, 8 zweikernige und 3 vielkernige Merozoiten in einer Vakuole liegend. Er sah die Mutterzellen als Endprodukt der 2. Schizogonie an und die vielkernigen Merozoiten als Schizonten der 3. Gene-

ration, deren Entwicklung in der selben Vakuole ineinander übergeht. Er beschrieb damit einen ähnlichen Vermehrungsvorgang wie LICKFELD (1959) in seinen "cyst forms". HITCHCOCK (1955) schließlich berichtete über eine 2. Schizontengeneration, die der von SHAH (1971) geschilderten 3. Generation ähnlich ist.

Unsere lichtmikroskopischen Untersuchungen (120 - 168 Std. p.i.) ergaben ähnliche Ergebnisse. Wir beobachteten sogenannte Schizonten der 2. Generation mit 2, 4 und 8 Merozoiten, die wiederum vielkernige Stadien bilden können. Allerdings ist zu berücksichtigen, daß bei der verwendeten Ausstrichtechnik im Gegensatz zu den Paraffinschnitten sogenannte Schizonten der 2. Generation in toto nur selten beobachtet werden konnten. Die ultrastrukturellen Untersuchungen dieser Formen ergaben jedoch differenziertere Ergebnisse.

Demnach stellen sich die Schizonten der 2. und 3. Generation als Endodyogenie- bzw. Endopolygenieformen in zystenähnlichen Vakuolen dar, ähnlich dem von LICKFELD (1959) und SHAH (1971) beschriebenen Formen. Diese variieren in Aussehen, Entwicklung und Wirt - Parasitverhältnis erheblich von der eingangs beschriebenen Schizogonie. Sowohl Endodyogenie als auch Endopolygenie laufen teilweise in ein und derselben, von der Wirtszelle gebildeten und von einem starken Begrenzungswall umschlossenen parasitophoren Vakuole ab. Bei der Endodyogenie entwickeln sich in einer einzigen Mutterzelle durch Längsteilung des Kerns zwei Anlagen von Tochtermerozoiten. Durch erneute Transformation der Tochterzellen zu Mutterzellen kann sich dieser Vorgang mehrmals wiederholen. So beobachteten wir 2, 4 und 8 durch Endodyogenie entstandene Tochterzellen in einer parasitophoren Vakuole.

Parallel dazu ist auch die Bildung von mehrkernigen Parasiten in einer parasitophoren Vakuole möglich. Dabei entwickeln sich aus einem Kern durch mehrfache, amitotische Kernteilungen entlang von Bahnen des ER mehrere Tochteranlagen in einer Mutterzelle. Die aus diesen Teilungsformen hervorgehenden Merozoiten haben einen ausgeprägten Apikalkomplex. Ihre Größe beträgt $6 \times 2,5 \mu\text{m}$. Sie wurden deshalb von LICKFELD (1959)

als "Mikromerozoiten" bezeichnet.

Endodyogenieformen wurden bereits von HILALI, GHAFAR und SCHOLTYSECK (1979) bei *Isospora canis* und von VAN DER ZYPEN und PIEKARSKI (1967) für *Toxoplasma gondii* beschrieben. SCHOLTYSECK (1973) versuchte eine Deutung von Endodyogenie und Endopolygenie anhand von Untersuchungen an *E. stidae*, *E. tenella* und *Frenkelia*. Er sah in der Endopolygenie eine Abart der Schizogonie (syn. Endoschizogonie), die sogenannte Cytomeren hervorbringt, welche sich nochmals durch Endodyogenie teilen müssen, um ausdifferenzierte Merozoiten bilden zu können. Er betrachtete Endodyogenie und Endopolygenie als phylogenetisch ältere, die Schizogonie als jüngeren Teilungsmodus.

Unsere Ergebnisse zur ungeschlechtlichen Vermehrung von *Cystoisospora felis* lassen eher die Vermutung zu, die Endodyogenie und Endopolygenie seien Differenzierungsformen der aus den Schizonten stammenden Merozoiten, die sich nach Transformation so teilen, daß sich daraus Mikro- bzw. Makrogamonten entwickeln können.

LICKFELD (1959) und SHAH (1971) postulieren, daß sich die aus der jeweils letzten Schizogonie gebildeten "Mikromerozoiten" zu Gamonten entwickeln. Allerdings fehlten beiden Autoren die mikromorphologischen Details zur Aufklärung der Natur dieser Vermehrungsform.

Erst unsere Untersuchungen haben gezeigt, daß 3 verschiedene Arten der ungeschlechtlichen Vermehrung bei *Cystoisospora felis* ablaufen. Der oder den bekannten Schizogonien folgen zuerst eine oder mehrere Endodyogenien. Die daraus resultierenden Merozoiten haben nur einen unvollständigen Apikal-komplex ohne Conoid. Wie sie ihre parasitophore Vakuole verlassen, ist nicht klar. Aus ihnen entwickeln sich später in neu befallenen Epithelzellen wiederum Mutterzellen, in denen aber Endodyogenien ablaufen. Die daraus entstammenden Merozoiten sind klein und schlank; sie dürften somit den Mikromerozoiten (LICKFELD, 1959) entsprechen. Sie zeigen ein deutliches Conoid, das sie zum Neubefall von Wirtszellen be-

fähigt. Aus diesen differenzierten Merozoiten entwickeln sich dann Geschlechtsformen.

Die geschlechtliche Vermehrung von *C. felis* erfolgt über Mikrogamogonie und Makrogamogonie. Geschlechtlich differenzierte Merozoiten werden aus endopolygenen Mutterzellen entlassen, deren Kernanzahl offenbar entscheidend ist, ob sich aus den von ihnen produzierten Merozoiten Mikro- oder Makrogamonten entwickeln. Wir schließen aus lichtmikroskopischen Beobachtungen, daß vielkernige Mutterzellen längere und zweikernige kürzere Merozoiten hervorbringen. Die längeren Formen entwickeln sich unter Kernvermehrung zu Mikrogamonten, während die kürzeren sich abkugeln und zu Makrogamonten ausdifferenzieren. Beide Merozoitenarten tragen einen Conoid und erfahren nach Befall einer Epithelzelle über ein transformiertes Trophozoitenstadium ihre Ausdifferenzierung in die bereits geschlechtlich determinierten Gamonten.

Der Mikrogamont enthält etwa 130 Mikrogameten. Seine Entwicklung entspricht prinzipiell derjenigen anderer Kokzidienarten (SCHOLTYSECK, 1972). Die Mikrogameten bestehen aus einem von Kern und Mitochondrium bestehenden Zelleib sowie einem mit 3 Geißeln und Perforatorium versehenen Apikalkomplex. 2 Geißeln liegen frei, während die dritte rudimentär zu sein scheint und quer über den Zelleib zwischen Kern und Mitochondrium nach hinten verläuft. Diese Geißel ist mit den Achsenfibrillen des Gameten fest verbunden.

FERGUSON und Mitarbeiter (1980) haben am Mikrogameten von *C. felis* zwei Geißeln beobachtet und eine dritte rudimentäre Geißel in Frage gestellt. Sie beschrieben am Mitochondrium angeordnet eine Reihe von Mikrotubuli, die unserer Meinung nach den bereits erwähnten Achsenfibrillen zuzuordnen sind. Damit scheinen die Mikrogameten ähnlich denen von *E. perforans*, *E. tenella*, *E. nieschulzi* und *A. eberthi* (SCHOLTYSECK, 1965; MC LAREN, 1969; COLLEY, 1967; HELLER, 1970) aufgebaut. In diesen Spezies wurden ebenfalls zwei freie und eine dritte, am Körper des Mikrogameten befestigte Geißel gefunden. Auch die von FERGUSON und Mitarbeiter (1980) beobachteten

Mikrotubuli, die aus einer Basalplatte entspringend längs des Mitochondrium laufen, deuten auf eine enge Verwandtschaft des Parasiten mit *Toxoplasma gondii* (PELSTER und PIEKARSKI, 1971) hin; dort wurden diese Mikrotubuli ebenfalls gefunden.

Der reife Makrogamet ist durch eine geschlossene, 40 nm dicke Doppelmembran, das Auftreten von Lipid wie von Hüllbildungskörpern vom Typ I und II charakterisiert. Auffallend ist das Auftreten von Maturationskörpern in bereits frühen Entwicklungsstadien längs der Kernmembran, die dort eine geordnete Lage einnehmen.

Diese Maturationskörper wurden bereits von GALLUCI (1974) bei *Haemoproteus columbae* beobachtet. Sie scheinen sich aus Ausstülpungen der Kernmembran zu entwickeln und nehmen zum Zeitpunkt der Fertilisation eine besonders geordnete Struktur an. Über ihre Funktion ist noch nichts bekannt; aufgrund der Ausschleusung von Kernmaterial in diese Körper liegt es jedoch auf der Hand, sie mit Vorgängen bei der Befruchtung in Verbindung zu bringen. Sie sind identisch mit den von FERGUSON und Mitarbeitern (1980) beschriebenen "multimembranous vacuoles". SCHOLTYSECK (1973) hat ähnliche Strukturen bei Endodocyten von *E. tenella* festgestellt.

Eine Befruchtung sahen wir im Elektronenmikroskop nicht; im Lichtmikroskop mehrmals beobachtete, kernähnliche Plaques von $1 \times 2 \mu\text{m}$ im peripheren Zytoplasma deuten darauf hin, daß die Befruchtung durch Eindringen des Mikrogameten in den Makrogameten erfolgt. Ob der Mikrogamet bei der Perforation der Makrogametenmembran seine Fortbewegungsorganellen verliert, kann lichtmikroskopisch nicht geklärt werden. Es scheint die Befruchtung den von MADDEN und VETTERLING (1977) bei *E. tenella* beschriebenen Vorgang ähnlich zu sein. Für eine Anlagerung des Mikrogameten an die Makrogametenpellikula und Überfließen von Kernsubstanz in den Makrogameten, wie von SCHÄFFLER (1979) für *Sarcocystis suicanis* beschrieben, bestehen für *C. felis* keine Anhaltspunkte.

Zygotenstadien werden elektronenoptisch am Auftreten zahlreicher Polysaccharidgranula, kristalliner Strukturen und an den bis zu 1,4 μ m großen Hüllbildungskörpern vom Typ II erkannt. Der Nukleolus ist bei diesen Formen nicht mehr sichtbar. Membranverhalten, Art und Form der Hüllbildungskörper von *C. felis* lassen eine enge Verwandtschaft zu den von PIEKARSKI und PELSTER (1972) untersuchten *Toxoplasma gondii* erkennen. Auch die Art der ungeschlechtlichen Vermehrung von *Toxoplasma gondii* mit Schizogonie im Darm, Endodyogenie in Zysten und Endopolygenie wiederum im Darm scheint der von *C. felis* sehr ähnlich zu sein.

Es ist denkbar, daß sich alle Arten von *Isospora* (DUBEY, 1979; HILALI, GHAFFAR und SCHOLTYSECK, 1979) von *Eimeria* (SCHOLTYSECK, 1973), von *Sarcocystis* (HEYDORN und MEHLHORN, 1978) sowie von *Frenkelia* (GÜBEL, ROMMEL und KRAMPITZ, 1978) nach dem Muster Schizogonie, Endodyogenie und Endopolygenie vermehren. Die Endodyogenieform scheint dabei den Übergang von der einfachen Vermehrungsphase (Schizogonie) in die Differenzierungsphase (Endopolygenie) darzustellen. Nach FAYER und THOMPSON (1974) unterbleibt die Vermehrungsphase von *C. felis* in artfremden Zellkulturen, während die Differenzierung des Parasiten in Form von Endodyogenie und Endopolygenie sehr wohl beobachtet wird.

Von *Toxoplasma gondii* ist bekannt, daß der Endwirt Katze nach Infektion sowohl mit Zysten (Organ- und Muskelzysten) als auch mit Oozysten unter vorgeschalteter Schizogonie wiederum Oozysten ausscheidet (ROMMEL, 1978; VAN DER ZYPEN, 1967; PIEKARSKI, PELSTER und WITTE, 1971).

Die bei *Isospora*arten beschriebenen, als Dormozoiten bezeichneten, extraintestinalen Stadien scheinen nicht in dieses Schema der zystenbildenden Kokzidien zu passen. Eine Endodyogenie wurde bei diesen Dormozoiten noch nicht festgestellt (FRENKEL und DUBEY, 1972; FRENKEL, 1974; MEHLHORN und MARKUS, 1976).

Auch die in Schizonten beobachtete Konstanz der Merozoitenzahlen von 8, 16 und 24 muß gewertet werden. Es scheint jeder Sporozoit über ein bestimmtes Teilungspotential zu verfügen. Über verschieden große Schizonten, über Endodyo- und Endopolygenie wird dieses Teilungspotential verschieden stark von Vermehrungs- und Differenzierungsphase in Anspruch genommen, so daß während der ungeschlechtlichen Vermehrung eine Vielzahl von Merozoitengrößen und Zoitenformen entsteht (DUGÉY, 1979). Das Teilungspotential wird in jedem Fall bis zu den ausdifferenzierten Merozoiten voll in Anspruch genommen; denn deren Volumen und Kern, egal welcher Provenienz, sind wieder gleich groß.

Während 3 verschiedene Formen der ungeschlechtlichen Vermehrung (Schizogonie, Endodyogenie und Endopolygenie) bei *Cystoisospora felis* bewiesen werden konnten, fehlen uns immer noch gesichert die Vorgänge zwischen letzter Endopolygenie und Gamogonie. Lichtmikroskopische Ergebnisse deuten jedoch darauf hin, daß eine Differenzierung der Gamonten in Mikro- und Makrogamonten bereits während der ungeschlechtlichen Reproduktion erfolgt.

V. Zusammenfassung

Es wurden licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen über die verschiedenen Entwicklungsstadien von *Cystoisospora felis* im Darm der Katze durchgeführt. Acht kokzidienfreie, 4 - 6 Wochen alte Katzen wurden mit 100 000 sporulierten Oozysten infiziert und je eine 72, 96, 120, 144, 168, 180 und 210 Stunden p. i. getötet.

Die ungeschlechtliche Vermehrung von *C. felis* über mindestens eine Schizogonie wurde bestätigt; sie läuft zwischen dem 3. und 5. Infektionstag ab. Erstmals konnten für diese Kokzidienart Endodyogenien und Endopolygenien als weitere ungeschlechtliche Reproduktionsformen dargestellt werden; diese laufen vom 5. bis 7. Infektionstag ab. Aus Endopolygenien entstandene Tochterzellen differenzieren sich zu Makro- und Mikrogamonten. Die Mikrogamonten wiesen neben zwei frei beweglichen Geißeln noch eine weitere, fest mit dem Zelleib verbundene Geißel auf.

Die ultrastrukturellen Untersuchungen weisen darauf hin, daß durch die festgestellten Endodyogenien und Endopolygenien *Cystoisospora* (*Isospora*) *felis* den zystenbildenden Kokzidien (*Toxoplasma*, *Sarcocystis*) systematisch näher steht als der Gattung *Eimeria*.

Schönweitz, W.F.: Light- and electron microscopic investigations on the asexual and sexual multiplication of Cystoisospora felis in the small intestine of experimentally infected cats.

Summary

Light and electron microscopic investigations were made in order to study the different stages of development of Cystoisospora felis in the intestine of the cat. Eight coccidia - free, 4 - 6 week old kittens were infected with 100 000 sporulated oocysts and then sacrificed at 72, 96, 120, 144, 168, 180 and 210 hours p. i.

The asexual multiplication of Cystoisospora felis by at least one schizogony was corroborated. This schizogony occurred between the third and fifth day after infection. Endodyogenous and endopolygenous stages were also observed for the first time as further forms of asexual reproduction. These forms were found between the fifth and the seventh day after infection. Daughter cells developed by endopolygeny and then differentiated into macro- and microgamonts. The microgamonts showed two movable flagella next to one flagellum which was tightly connected with the gamete cell body.

The ultrastructural examinations demonstrated that Cystoisospora (Isospora) felis is more similar to the cyst - forming coccidia (Toxoplasma, Sarcocystis) because of the discovered endogenous stages, than to the Eimeria.

VI. Literaturverzeichnis

- Andrews, J.M. (1926): Coccidiosis in mammals.
Am. J. Hyg. 6, 784 - 98
- Colley, F.C. (1967): Fine structure of microgametocytes
and macrogametes of *Eimeria nieschulzi*.
J. Protozool. 14, 663 - 674
- Dubey, J.P. (1975): Experimental *Isospora canis* and
Isospora felis infection in mice, cats and
dogs.
J. Protozool. 22, 416 - 417
- Dubey, J.P. (1979): Life cycle of *Isospora rivolta* (Grassi,
1879) in cats and mice.
J. Protozool. 26, 433 - 443
- Dubey, J.P., Frenkel, J.K. (1972): Extra-intestinal stages
of *Isospora felis* and *Isospora rivolta* (Protozoa:
Eimeriidae) in cats.
J. Protozool. 19, 88 - 92
- Fayer, R., Thompson, D.E. (1974): *Isospora felis*: Development
in cultured cells with some cytological observations.
J. Parasit. 60, 160 - 168
- Ferguson, D.J.P., Birch-Andersen, A., Hutchison, W.M.,
Siim, J.Chr. (1980): Ultrastructural observations
on macrogametogenesis and the structure of the
macrogamete of *Isospora felis*.
Acta pat. microbiol. scand. Sect. B 88, 161 - 168

Ferguson, D.J.P., Birch-Andersen, A., Hutchison, W.M.,
Siim, J.Chr. (1980): Ultrastructural observations
on microgametogenesis and the structure of the
microgamete of *Isospora felis*.
Acta path. microbiol. scand. Sect. B 88, 151 - 159

Finck, H. (1854): Sur la physiologie de l'épithélium
intestinal.
Thèse, Strasbourg

Frenkel, J.K. (1974): Advances in the biology of Sporozoa.
Z. Parasitenk. 45, 125 - 162

Frenkel, J.K., Dubey, J.P. (1972): Rodents as vectors for
feline coccidia, *Isospora felis* and *Isospora rivolta*.
J. Infect. Dis. 125, 69 - 72

Galluci, B.B. (1974): Fine structure of *Haemoproteus*
columbae Kruse during macrogametogenesis and
fertilization.
J. Protozool. 21, 254 - 263

Gebelhoff, E. (1978): Das Rind als Zwischenwirt von
Isospora felis. 8. Tagung der Deutschen Gesell-
schaft für Parasitologie vom 15. - 18.3.1978 in
Freiburg (Brsg)

Göbel, E., Rommel, M., Krampitz, H.E. (1978): Ultrastruk-
turelle Untersuchungen zur ungeschlechtlichen
Vermehrung von *Frenkelia* in der Leber der Röt-
telmaus.
Z. Parasitenk. 55, 29 - 42

- Heller, G. (1970): Elektronenmikroskopische Untersuchungen an *Aggregata eberthi* aus dem Spiraldarm von *Sepia officinalis* (Sporozoa, Coccidia). II. Die Entwicklung der Mikrogameten.
Z. Parasitenk. 33, 183 - 193
- Heydorn, A.-O., Gestrich, R., Mehlhorn, H., Rommel, M. (1975):
Proposal for a new nomenclature of the sarcosporidia.
Z. Parasitenk. 48, 73 - 82
- Heydorn, A.-O., Mehlhorn, H. (1978): Light and electron microscopic studies on *Sarcosystis siuhominis*.
2. The schizogony preceding cyst formation.
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 240, 123 - 134
- Hilali, M., Ghaffar, F.A., Scholtyseck, E. (1979):
Ultrastructural study of the endogenous stages of *Isospora canis* (Nemeseri, 1959) in the small intestine of dogs.
Acta vet. acad. scient. Hung. 27, 233 - 243
- Hitchcock, D.J. (1955): The life cycle of *Isospora felis* in the kitten.
J. Parasit. 41, 383 - 397
- Lickfeld, K.G. (1959): Untersuchungen über das Katzencoccid *Isospora felis* (Wenyon, 1923).
Arch. Protist. 103, 427 - 456
- Madden, P.A., Vetterling, J.M. (1977): Scanning electron microscopy of *Eimeria tenella* microgametogenesis and fertilization.
J. Parasit. 63, 607 - 610

- Mc Laren, D.J. (1969): Observations on the fine structural changes associated with schizogony and gametogony in *Eimeria tenella*.
Parasitology 59, 563 - 574
- Mehlhorn, H., Markus, M. (1976): Electron microscopy of stages of *Isospora felis* of the cat in the mesenteric lymph node of the mouse.
Z. Parasitenk. 51, 15 - 24
- Pelster, B. (1973): Vergleichende elektronenmikroskopische Untersuchungen an den Makrogameten von *Isospora felis* und *Isospora rivolta*.
Z. Parasitenk. 41, 29 - 46
- Pelster, B., Piekarski, G. (1971): Elektronenmikroskopische Analyse der Mikrogametenentwicklung bei *Toxoplasma gondii*.
Z. Parasitenk. 37, 267 - 277
- Piekarski, G., Pelster, B. (1972): Untersuchungen zur Feinstruktur des Makrogameten von *Toxoplasma gondii*.
Z. Parasitenk. 39, 225 - 232
- Piekarski, G., Pelster, B., Witte, H.M. (1971): Endopolygenie bei *Toxoplasma gondii*.
Z. Parasitenk. 36, 122 - 130
- Reynolds, E. (1963): The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy.
J. Cell. Biol. 17, 208 - 212

- Roberts, W.L., Hammond, D.M., Anderson, L.C., Speer, C.A.
(1970): Ultrastructural study of schizogony in
E. callospermophili.
J. Protozool. 17, 584 - 592
- Rommel, M. (1978): Vergleichende Darstellung der Entwick-
lungsbiologie der Gattungen *Sarcocystis*, *Frankelia*,
Cystoisospora, *Hammondia*, *Toxoplasma* und *Besnoitia*.
Z. Parasitenk. 53, 269 - 283
- Schäffler, M. (1979): Licht- und elektronenmikroskopische
Untersuchungen zur Gamogonie und Sporogonie von
Sarcocystis suicanis im Dünndarm experimentell
infizierter Hunde.
Vet. med. Diss., München 1979
- Scholtyssek, E. (1965): Die Mikrogametenentwicklung von
Eimeria perforans.
Z. Zellforsch. 66, 625 - 642
- Scholtyssek, E. (1973): Die Deutung von Endodyogenie und
Schizogonie bei Coccidien und anderen Sporozoen.
Z. Parasitenk. 42, 87 - 104
- Shah, H.L. (1970): Sporogony of the oocysts of *Isospora felis*
(Wenyon, 1923) from the cat.
J. Protozool. 17, 609 - 614
- Shah, H.L. (1971): The life cycle of *Isospora felis*
(Wenyon, 1923), a coccidium of the cat.
J. Protozool. 18, 3 - 17.
- Swellengrebel, N.H. (1914): Zur Kenntnis der Entwick-
lungsgeschichte von *Isospora bigemina* (Stiles).
Arch. Protist. 32, 379 - 392

- Tomimura, T. (1957): Experimental studies on coccidiosis in dogs and cats. (1) The morphology of oocyst and sporogony of *Isospora felis* and its artificial infection in cats.
Jap. J. Parasit. 6, 12 - 24
- Van der Zypen, E., Piekarski, G. (1967): Die Endodyogenie bei *Toxoplasma gondii*. Eine morphologische Analyse.
Z. Parasitenk. 29, 15 -35
- Wenyon, C.M. (1923): Coccidiosis of cats and dogs and the status of the *Isospora* of man.
Ann. Trop. Med. Parasit. 17, 231 - 288.

Herrn Professor Dr. Dr. h.c. J. Boch danke ich sehr herzlich für die Überlassung des Themas und des Arbeitsplatzes.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. E. Göbel für die stets freundlich gewährte Unterstützung und Anregungen zu meiner Arbeit und insbesondere Frau H. Meyer für die hervorragende technische Hilfe und Anleitung.

l e b e n s l a u f

Am 20.3.1954 wurde ich als erstes Kind von Ernst Schönweitz, Holzkaufmann und Landwirt in Immelstetten und seiner Ehefrau Therese, geb. Lochbrunner, in Augsburg geboren.

Von 1960 bis 1964 besuchte ich die Volksschule in Immelstetten, anschließend das Neusprachliche Gymnasium am Maristenkolleg in Mindelheim. Im Jahre 1973 legte ich dort die Prüfung der allgemeinen Hochschulreife ab.

Von 1973 bis 1974 leistete ich meinen Grundwehrdienst beim Stab JaboG 32 in Lechfeld bei Augsburg ab.

Im Wintersemester 1974 nahm ich das Studium der Veterinärmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München auf.

Im Herbst 1976 legte ich die Tierärztliche Vorprüfung und im Herbst 1979 die Tierärztliche Prüfung ab.

Seit 1979 arbeitete ich an meiner Dissertation am Institut für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie unter Leitung von Prof. Dr. Dr. h.c. J. Boch.

Im Februar 1980 erhielt ich meine Approbation.

